

Aus dem Physiologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Ein neuartiger Detektor zur Messung
des Sauerstoffpartialdruckes in
biologischen Systemen

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von Dr.rer.nat.Oswald Burkhard
aus Esselborn

Mainz, 1988 9

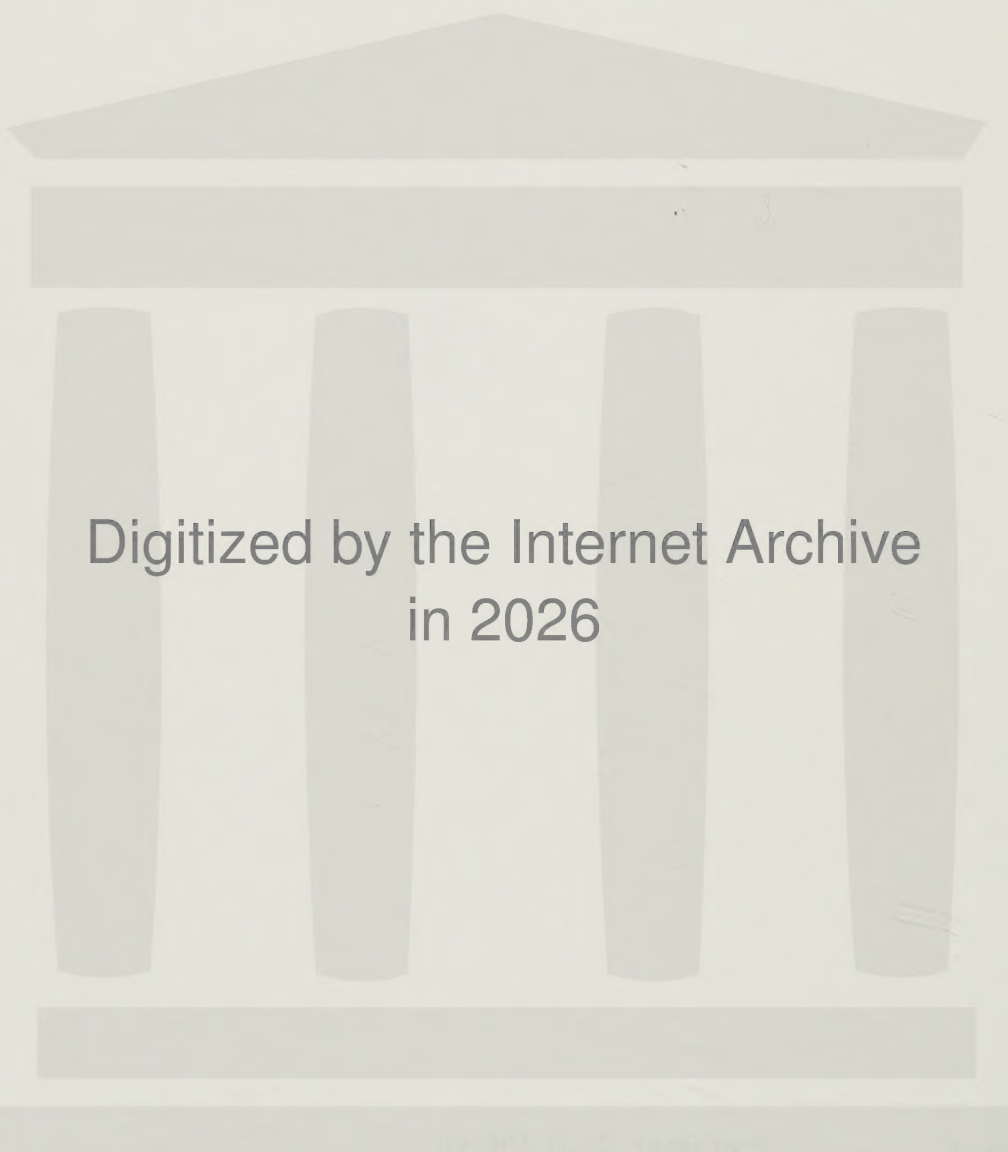
Dekan: Professor Dr.M.Thelen

1.Gutachter: Professor Dr.Dr.W.K.R.Barnikol

2.Gutachter: Professor Dr.R.Ferlinz

3.Gutachter: Professor Dr.D.W.Lübbbers

Tag der Promotion: 1.2.1989



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554422_0040

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Theoretische Grundlagen	2
2.1 Definitionen	2
2.2 Charakteristika des Phänomens	3
3. Methodische Vorgehen	4
4. Empirische Untersuchung der Phänomene	5
4.1 Stichprobenauswahl / Untersuchungsfeld	5
4.2 Datenerhebung / Erhebungsinstrumente	6
4.3 Analyse und statistische Auswertung	7
5. Zusammenfassung, Bewertung und Schluss	8

Herrn Prof.Dr.Dr.W.K.R.Barnikol danke ich für die vielen wertvollen Diskussionen und die engagierte Betreuung meiner Arbeit.

Der Firma Siemens-Elcoma/Schweden danke ich für die finanzielle Unterstützung meiner Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Theoretische Grundlagen	4
2.1 Diffusion	4
2.2 Fluoreszenzlöschung durch Sauerstoff	7
3. Apparativer Aufbau	19
4. Messung mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen	26
4.1 Fluoreszenz-Gelb (Fluorescent Yellow [®])	26
4.2 Tetraphenylporphyrin und ähnliche Verbindungen	48
4.3 Pyren und andere aromatische Kohlenwasserstoffe	65
5. Zusammenfassende Beurteilung und Ausblick	71

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

c:	Lichtgeschwindigkeit
c_A :	Konzentration der Komponente A
D_A :	Diffusionskoeffizient der Komponente A
DMF:	Dimethylformamid
EZ:	Einstellzeit
F:	Fluoreszenzintensität
FFst:	Fluoreszenzfarbstoffe
FL:	Fluoreszenzlöschung
FM:	Farbstoffmolekül
FY:	Fluoreszenz-Gelb (Fluorescent Yellow [®])
h:	Plancksches Wirkungsquantum ($\hbar = h/2\pi$)
k_q :	Konstante der Fluoreszenzlöschung
LM:	Lösungsmittel
n_A :	Molzahl der Komponente A
NC:	Naphthalozyanin
O ₂ :	Sauerstoff
pA:	Partialdruck der Komponente A
PC:	Phthalozyanin
PM:	Photomultiplier
PTFE:	Polytetrafluoräthylen
RQ:	Respiratorischer Quotient
t:	Zeit
TPP:	Tetraphenylporphyrin
WW:	Wechselwirkung
$ \phi\rangle$:	Bahnfunktion
ϕF :	Quantenausbeute der Fluoreszenz
$ \psi\rangle$:	Wellenfunktion
$ \sigma\rangle$:	Spinfunktion ($ \sigma^1\rangle$: Singlett; $ \sigma^3\rangle$: Triplett)
τ :	Lebensdauer eines Zustandes

1. Einleitung und Problemstellung

Bei mehreren atmungsphysiologischen Untersuchungen ist die Messung schneller Änderungen des Sauerstoff-Partialdrucks(pO_2) sehr interessant.

Zum Beispiel wird bei der Bestimmung des anatomischen Totraums nach der von Barnikol und Diether {1} angegebenen Methode der O_2 -Partialdruck und das expirierte Volumen gleichzeitig registriert. Für das Verfahren erweist sich der Zeitpunkt als besonders wichtig, an dem der O_2 -Partialdruck mit dem Abfall beginnt. Um diesen Zeitpunkt möglichst genau zu erfassen, bedarf es hinreichend schneller Sauerstoff-Detektoren.

Eine weitere interessante Anwendung von schnellen Sauerstoff-Detektoren ist die kontinuierliche Messung des Sauerstoffverbrauchs bei schwerkranken Patienten {2,3,4}. Neuhof konnte nachweisen, daß es durch die kontinuierliche Messung des Sauerstoffverbrauchs möglich ist, bei Patienten im Schockzustand eine Verschlechterung der Situation frühzeitig zu erfassen. In einigen Fällen ließ sich ein Abfall des Sauerstoffverbrauchs wesentlich früher als ein Blutdruckabfall nachweisen. Bei der von Neuhof angegebenen Methode liegen die Patienten unter einer Haube aus durchsichtigem Kunststoff, aus der kontinuierlich ein konstanter Luftstrom abgesaugt wird. Aus dem O_2 -Partialdruck des abgesaugten Gases läßt sich dann der Sauerstoffverbrauch berechnen. Diese Anordnung ist für den Patienten belastend und daher in der Routine nur eingeschränkt einsetzbar. Auch hier wäre ein schneller Sauerstoff-Detektor, der den O_2 -Partialdruck vor dem Mund des Patienten erfaßt, sicherlich eine Verbesserung. In diesem Zusammenhang sollte es auch möglich sein, einen Sauerstoff-Detektor mit einem bereits kommerziell erhältlichen Kohlendioxid-Detektor zu kombinieren und auf diese Weise Atemzug für Atemzug den Respiratorischen Quotienten(RQ) zu erfassen. Der Respiratorische Quotient erlaubt die Beurteilung der metabolischen Situation des Patienten.

Anhand der geschilderten Beispiele läßt sich aufzeigen, daß ein schneller Sauerstoff-Detektor in der biomedizinischen Technik einige interessante Anwendungsmöglichkeiten bietet. Daher wurde im Rahmen dieser Arbeit der Versuch unternommen, einen Sauerstoff-Detektor zu konstruieren, der eine 90% Einstellzeit(EZ) von weniger als 10 ms aufweist.

Die Frage ist zunächst, ob die kommerziell erhältlichen Geräte derart modifiziert werden können, daß sie den obigen Anforderungen genügen.

Häufig wird der Sauerstoffgehalt von Gasproben elektrochemisch gemessen {5,6}. Hierzu wird an einer Kathode aus Platin bei definierter Spannung der in dem flüssigen Medium vor der Kathode gelöste Sauerstoff reduziert. Der gemessene

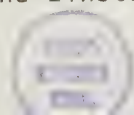
Strom ist proportional zum O_2 -Partialdruck, mit dem die flüssige Phase äquilibriert wurde. Für Messungen in der Gasphase muß die Elektrode und die Elektrolytschicht mit einer Sauerstoff-durchlässigen Schicht aus Polytetrafluoräthylen (PTFE) oder Silikonkautschuk überzogen werden. Der Sauerstoff der Gasphase muß vor dem Meßvorgang durch die Sauerstoff-durchlässige Folie und die Elektrolytschicht diffundieren. Hierbei ergeben sich lange Diffusionswege, so daß diese Elektroden in der Regel lange Einstellzeiten aufweisen.

Döhring et. al. {7} ist es gelungen, durch Verwendung eines PTFE-Films von $0,4\mu$ Dicke eine Elektrode mit einer Einstellzeit von 15-20 ms zu konstruieren. Es ist sehr unwahrscheinlich, daß durch weitere Modifikationen diese Einstellzeit noch wesentlich unterschritten werden kann. Weiterhin sind diese Elektroden mechanisch sehr anfällig, so daß ihr Einsatz in der klinischen Routine nicht möglich ist.

Bei einer anderen Methode {8} werden kleine Mengen des zu messenden Gases in eine definierte Meßkammer gesaugt und die magnetischen Eigenschaften der Probe erfaßt. Da nun Sauerstoff, im Gegensatz zu den meisten anderen in der Atmungsphysiologie wichtigen Gasen, paramagnetische Eigenschaften aufweist, ist die Kraft, mit der die Gasprobe in das Magnetfeld gezogen wird, dem Sauerstoff-Partialdruck proportional. Die Einstellzeit des Gerätes beträgt etwa 7 s. Aufgrund des Meßprinzips ist es technisch schwer möglich, die Einstellzeiten wesentlich zu verringern.

Atemgase lassen sich weiterhin mittels eines Massenspektrometers untersuchen {9}. In diesem Fall wird eine geringe Menge der Gasprobe über eine Kapillare in das Einlaßventil des Massenspektrometers gesaugt. Anschließend werden die Gasmoleküle ionisiert und durchlaufen geeignete elektrische und magnetische Felder, wobei die einzelnen Molekülsorten in Abhängigkeit von ihrer Masse aufgetrennt werden. Störend ist bei diesem System insbesondere die Totzeit, also die Zeit welche die Probe benötigt um den Detektor zu erreichen. Auch hier erscheint es nicht möglich die Totzeit von zur Zeit etwa 100 ms erheblich zu verkürzen.

Ein weiteres interessantes Verfahren nutzt ebenfalls das magnetische Moment der Sauerstoff-Moleküle aus. Wie in späteren Abschnitten genauer erläutert werden wird, kann Sauerstoff aufgrund seiner paramagnetischen Eigenschaften unter geeigneten Bedingungen die Fluoreszenz organischer Moleküle abschwächen, ein Prozeß der als Fluoreszenzlöschung (FL) bezeichnet wird. Zwischen dem Ausmaß der Fluoreszenzlöschung und dem Sauerstoff-Partialdruck besteht ein quantitativer Zusammenhang. Lübbers et. al. {10,11,12} haben diese Eigenschaft zur Entwicklung der sogenannten Optode ausgenutzt. Das Sauerstoff-empfindliche Element der Optode bildet eine etwa 10μ m dicke Schicht einer Lösung von Pyrenbuttersäure in Dimethylformamid (DMF). Diese Schicht ist von einer 6μ m dicken Teflonmembran überzogen. Lübbers et. al. geben eine Einstellzeit von 2-3 s an. Nachteilig ist ins-



besondere , daß die Sauerstoff-empfindliche Schicht ein merkliches Volumen aufweist und daher bei Änderung des Sauerstoff-Partialdrucks sich die Schicht mit dem Meßgut äquilibrieren muß. Dies erfordert die Verschiebung von endlichen Sauerstoffmengen in die Optode, was lange Einstellzeiten bedingt. Ein ähnliches Konzept ist von R.Berthold {13} und von Stanley und Kropp {15} zum Patent angemeldet worden.

Schmidt et. al. {14,16} haben eine Schicht aus Silica-Gel-Körnchen benutzt, wobei an die Silica-Gel-Körnchen ein geeigneter Farbstoff adsorbiert war. In dieser Anordnung ist das Volumen, mit dem sich das Meßgut äquilibrieren muß, extrem klein, was zu sehr kurzen Einstellzeiten führt. Allerdings zeigte sich bei weiteren Experimenten, daß das Meßsignal erheblich durch den Feuchtigkeitsgehalt der Probe beeinflusst wird. Für die Messung von Atemgasen ist hingegen eine Unabhängigkeit des Signals vom Feuchtigkeitsgehalt der Probe essentiell. Die Anordnung von Schmidt et. al. ist somit nicht für die Untersuchung von Atemgasen geeignet. Schmidt et. al. {16} haben deshalb von einer Weiterentwicklung eines Sauerstoff-Detektors basierend auf dem Prinzip der Fluoreszenzlöschung Abstand genommen.

Angeregt durch die Arbeit von Peterson und Fitzgerald {17}, in der gezeigt wurde, daß sich an mit Fluoreszenzfarbstoff bedeckten Silica-Gel-Schichten Strömungsprofile von Gasen direkt sichtbar machen lassen, wurde der Entschluß gefaßt, einen Sauerstoff-Detektor zu entwickeln, der auf dem Prinzip der Fluoreszenzlöschung beruht und mit einer Anordnung arbeitet, die dem Versuchsaufbau von Schmidt et. al. ähnelt. Neben der schnellen Einstellzeit bietet ein derartiger Detektor weitere Vorteile: Insbesondere wird für die Sauerstoff-Messung kein Sauerstoff verbraucht. Dies erweist sich als besonders vorteilhaft für die Untersuchung von Mikroproben, bei denen ein endlicher Sauerstoffverbrauch durch das Meßsystem das Meßgut selbst merklich stört. So ist zum Beispiel in der Intensivmedizin bei der perkutanen Messung des Sauerstoff-Partialdrucks mit einer kommerziellen Sonde, die die Sauerstoff-Konzentration elektrochemisch erfaßt, der Sauerstoffverbrauch der Meßsonde oft ein limitierender Faktor {18,19,20}. Übereinstimmend wird in den angegebenen Arbeiten festgestellt, daß bei Intensivpatienten mit Kreislaufproblemen, die transcutane Sauerstoff-Sonde eher den Sauerstofftransport durch die Haut mißt, als den Sauerstoffgehalt des subcutanen Gewebes. Hier wäre zu erwarten, daß ein Sauerstoff-Detektor ohne Verbrauch wesentlich zuverlässigere Resultate liefert. Der Vorteil, daß der zu entwickelnde Detektor keinen Sauerstoff verbraucht, läßt sich auch für die Messung des Sauerstoffverbrauchs der Zellen oder des Gewebes ausnutzen. Vermutlich lassen sich derartige Untersuchungen dann an Mikroproben durchführen.

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Diffusion

Da bei vielen Vorrichtungen zur Messung des Sauerstoff-Partialdrucks der Sauerstoff zumindest teilweise auf diffusivem Wege zu der Meßsonde gelangen muß, spielt die Theorie der Diffusion bei der Konstruktion eines Sauerstoff-Detektors eine wesentliche Rolle.

Mathematisch läßt sich der Diffusionsvorgang durch das 1. (2.1.1) und 2. (2.1.2) Ficksche Gesetz beschreiben:

$$\frac{\partial n}{\partial t} = - DF \nabla c \quad (2.1.1)$$

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \nabla^2 c \quad (2.1.2)$$

Hierbei ist n die Mohlzahl und c die Konzentration der betrachteten Substanz. Mit D wird der Diffusionskoeffizient und mit F der Flächenvektor bezeichnet.

Vektorielle Größen werden durch Fettdruck gekennzeichnet. F ist z.B. ein Vektor, dessen Betrag gleich der Größe der Fläche F ist und dessen Richtung senkrecht zur Fläche weist.

Für den einfachen Fall der Diffusion in einem linearen System (c hängt nur von der x -Koordinate ab) reduzieren sich die obigen Gleichungen zu:

$$\frac{\partial n}{\partial t} = - DF \frac{\partial c}{\partial x} \quad (2.1.1a)$$

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (2.1.2a)$$

Gleichung 2.1.1a besagt, daß der Stofftransport durch die Fläche F dem Konzentrationsgradienten proportional ist.

Um wesentliche Prinzipien, die für die Konstruktion eines Sauerstoff-Detektors wichtig sind, zu verdeutlichen, sei nun ein einfaches Modell vorgestellt. Betrachtet wird ein unendlich großer Raum in dem sich eine Substanz mit der Ausgangskonzentration c_0 befindet (vgl. Bild 2.1.1). Hinter einer Membran mit der Dicke s' sei ein abgeschlossener Raum mit der Höhe h und der Fläche F (dieses Modell simuliert die Optode von Lübbers). Da der Raum vor der Membran sehr groß ist, bleibt c_0 weitgehend konstant. In dem Raum hinter der Membran soll die Konzentration der Substanz durch Konvektion

schnell ausgeglichen werden. Diese letzte Bedingung ist an der von Lübberts angegebenen Optode nicht erfüllt. Bei dem vorgestellten Modell erhält man also nur eine grobe, jedoch untere Abschätzung der Einstellzeit, was allerdings für die prinzipielle Diskussion der einzelnen Einflußgrößen ausreicht.

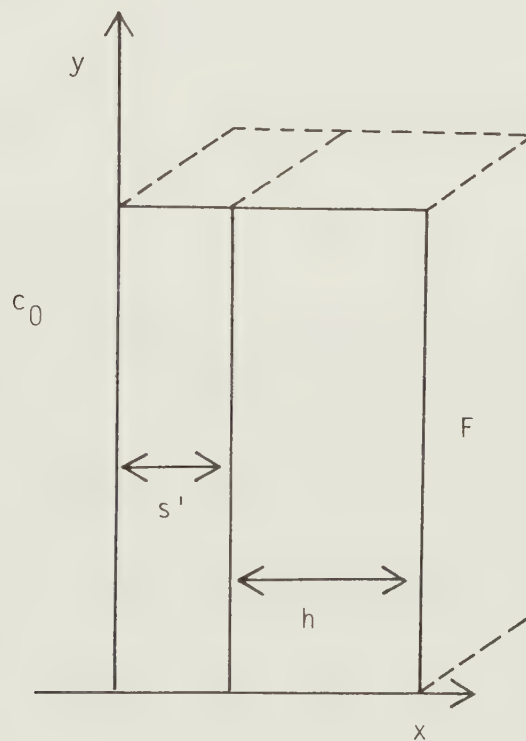


Bild 2.1.1

Skizze des Modells (Beschreibung und Bezeichnung der einzelnen Größen vgl. Text)

Anfangs sei die Konzentration der Substanz in dem Raum hinter der Membran (c') Null. Die durch die Membran diffundierende Substanz führt dann zu einer Konzentrationserhöhung in dem Raum hinter der Membran; es gilt:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{1}{F \cdot h} \frac{\partial n}{\partial t} \quad (2.1.3)$$

Der diffusive Transport der Substanz durch die Membran wird durch den

Konzentrationsgradienten bestimmt, der sich wie folgt berechnen läßt:

$$\frac{\partial c}{\partial x} = \frac{c_0 - c'}{s'} \quad (2.1.4)$$

Durch Einsetzen von (2.1.3) und (2.1.4) in (2.1.1a) erhält man schließlich:

$$\frac{\partial c'}{\partial t} = - \frac{D}{h s'} (c_0 - c') \quad (2.1.5)$$

Die Integration dieser Differentialgleichung (mit der Bedingung: $c'=0$ für $t=0$) liefert dann:

$$c' = c_0 \left[1 - \exp \left(- \frac{D}{h s'} t \right) \right] \quad (2.1.6)$$

Die Zeit (τ_{95}), welche verstreicht, bis c' sich auf 95% des Wertes von c_0 angenähert hat, ist näherungsweise durch (2.1.6) gegeben:

$$\tau_{95} = \frac{3 h s'}{D} \quad (2.1.7)$$

In Tabelle (2.1.1) ist nun die Abhängigkeit von τ_{95} von der Dicke der Membran dargestellt.

Tabelle (2.1.1)

Abhängigkeit von τ_{95} von der Dicke der Membran ($D=4 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$, $h=10 \mu\text{m}$)

$s' (\mu\text{m})$	1	10	100
$\tau_{95} (\text{ms})$	7,5	75	750

Bereits eine Schicht von 10μ Dicke verursacht eine relativ lange Einstellzeit von 75 ms. Wie anhand von Gleichung (2.1.7) zu erkennen ist, hat die Höhe des Raumes hinter der Membran einen ähnlichen Einfluß wie s' . Um kurze Einstellzeiten zu erhalten, muß also sowohl h als auch s' möglichst klein gehalten werden. In diesem Zusammenhang ist besonders eine Anordnung interessant, bei der keine Schutzschicht vorhanden ist ($s'=0$) und h größenordnungsmäßig im Bereich molekularer Dimensionen liegt. Mit einer derartigen Anordnung sollten sehr kurze Einstellzeiten erreichbar sein. Im übrigen muß man darauf achten, daß die Schutzschicht für die be-

trachtete Substanz möglichst gut permeabel ist, also D möglichst große Werte annimmt. Für Sauerstoff eignen sich hierzu besonders Membranen aus Polytetrafluoräthylen, Silikonkautschuk oder Polyacetylen [21].

2.2 Fluoreszenzlöschung durch Sauerstoff

Fluoreszenzfarbstoffe (FFst) liegen normalerweise in ihrem elektronischen Grundzustand vor. Der Grundzustand ist in der Regel (bei den meisten organischen Farbstoffen) ein Singlett-Zustand. Dies bedeutet, daß die Spinfunktion $|\sigma\rangle$ symmetrisch im Bezug auf eine Vertauschung der Elektronen ist:

$$P|\sigma\rangle = +|\sigma\rangle \quad (2.2.1)$$

P ist der Permutationsoperator der eine Vertauschung der Elektronen bewirkt. Die Wirkung des Permutationsoperators auf die Singlett-Funktion führt nicht zu einer Vorzeichenänderung. Bei Triplet-Zuständen ist dagegen die Spinfunktion antisymmetrisch bezüglich Permutation der Elektronen:

$$P|\sigma\rangle = -|\sigma\rangle \quad (2.2.1a)$$

Die gesamte Wellenfunktion $|\psi\rangle$, die sich in erster Näherung als Produkt von Spin- und Bahnfunktion $|\phi\rangle$ darstellt, muß antisymmetrisch bezüglich einer Permutation der Elektronen sein (Pauli Prinzip).

$$P|\psi\rangle = P|\phi\rangle|\sigma\rangle = -|\phi\rangle|\sigma\rangle \quad (2.2.2)$$

Also muß im Singlett-Zustand die Bahnfunktion bei Permutation der Elektronen ihr Vorzeichen ändern, während es im Triplet-Zustand gerade umgekehrt ist.

Hierdurch ergibt sich auch zwangsläufig das übliche Energieniveaudiagramm eines Farbstoffmoleküls (Jablonski-Schema; vgl. Bild 2.2.1). Der Grundzustand des Moleküls ist der Singlett-Zustand S^0 . Die Singlett-Zustände mit höherer Energie werden mit S^1 , S^2 , S^3 usw. bezeichnet. Neben diesen Energieniveaus gibt es noch die Triplet-Zustände T^1 , T^2 , T^3 usw. Man kann nun zeigen, daß der Triplet-Zustand stets eine niedrigere Energie besitzt als der korrespondierende Singlett-Zustand (Brillouin Theorem).

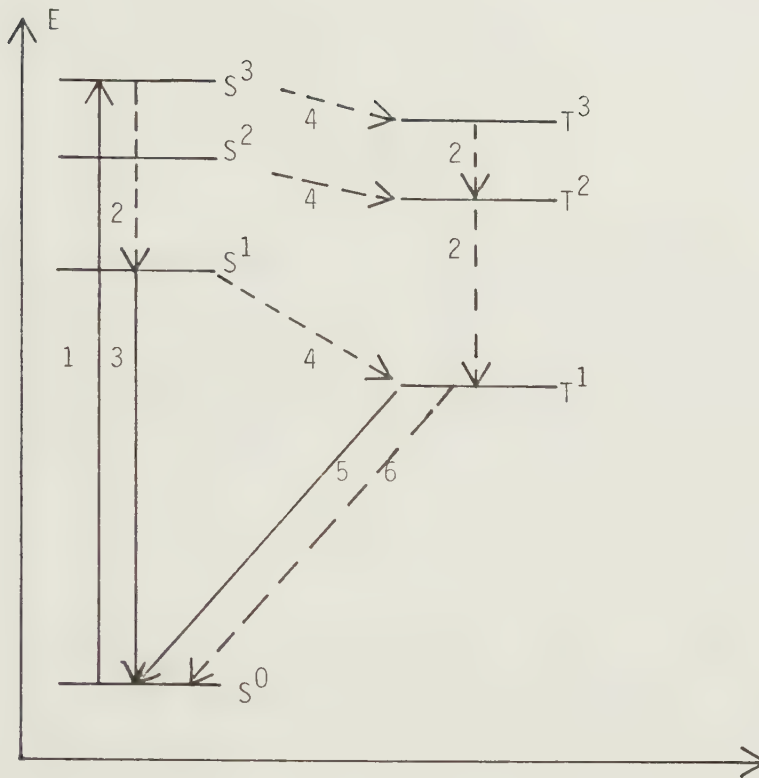


Bild (2.2.1); Jablonski-Schema

Darstellung wichtiger photophysikalischer Vorgänge bei Farbstoffmolekülen

(1: optische Absorption; 2: innere Konversion;
3: Fluoreszenz; 4: "intersystem crossing";
5: Phosphoreszenz; 6: "intersystem crossing")

Bei der Absorption von Licht geeigneter Wellenlänge wird das Farbstoffmolekül vom Grundzustand S^0 in höher angeregte Singlett-Zustände angehoben. Die Übergangswahrscheinlichkeit hängt insbesondere von dem Übergangsmoment (μ_{on}) ab, das wie folgt definiert ist:

$$\mu_{on} \equiv \langle \psi^0 | \mu | \psi^n \rangle \quad (2.2.4)$$

ψ^0 (ψ^n) ist die Spinbahnfunktion des Grundzustands (n-ten angeregten Zustands). μ ist der Dipolmomentoperator, der folgendermaßen definiert ist:

$$\mu \equiv e \sum_i r_i \quad (2.2.4a)$$

r_i ist die Koordinate des i-ten Elektrons und die Summation erstreckt sich über alle Elektronen des Systems. Für die Wellenlänge des absorbierten

Lichts (λ) gilt:

$$\lambda = \frac{h \cdot c}{(E_n - E_0)} \quad (2.2.4b)$$

h ist das Plancksche Wirkungsquantum und c die Lichtgeschwindigkeit. λ hängt also von der Energiedifferenz zwischen der Energie des Grundzustandes (E_0) und des n -ten angeregten Zustands (E_n) ab. Da der Dipolmomentoperator nur Elektronenkoordinaten enthält, kann er nur auf die Bahnfunktion wirken:

$$\mu_{on} = \langle \psi^0 | \mu | \psi^n \rangle = \langle \phi^0 | \mu | \phi^n \rangle \langle \sigma^0 | \sigma^n \rangle \quad (2.2.5)$$

Das Matrixelement μ_{on} ist somit nur dann von Null verschieden, wenn die beiden Zustände hinsichtlich ihrer Multiplizität übereinstimmen. Mit anderen Worten, ist ψ^n ein Triplettzustand dann verschwindet das Matrixelement μ_{on} . Aus Symmetriegründen sind also strahlungsinduzierte Übergänge zwischen Zuständen unterschiedlicher Multiplizität verboten. Bei der Absorption von Strahlung werden somit nur Singlettzustände bevölkert. In der Realität sind die Singlett-Triplett Übergänge nicht vollständig verboten, da durch Spin-Bahn-Wechselwirkung eine Mischung von Singlett und Triplett Zuständen erfolgt. Allerdings zeichnen sich Singlett-Triplett Übergänge durch einen sehr niedrigen Extinktionskoeffizienten aus.

Von den angeregten Singlett-Zuständen erfolgt in der Regel eine schnelle strahlungslose Desaktivierung zum ersten angeregten Zustand (S_1). Von S_1 hat nun das Farbstoffmolekül die Möglichkeit durch strahlungslose Desaktivierung in den Grundzustand überzugehen. Weiterhin kann der Übergang von S_1 nach S_0 unter Emission von Licht erfolgen, ein Prozeß, der als Fluoreszenz bezeichnet wird. Aus dem Energieniveaudiagramm ist zu ersehen, daß das Fluoreszenzlicht eine längere Wellenlänge als das Anregungslicht aufweist und daß sich der kurzwellige Teil des Fluoreszenzspektrums und der langwellige Teil des Absorptionsspektrums überlappen.

Als weitere Möglichkeit steht dem angeregten Molekül die strahlungslose Desaktivierung zum Triplett-Zustand T_1 offen. Von dort kann nun sowohl strahlungslos als auch unter Lichtemission ein Übergang zu S_0 erfolgen. Der letztere Prozeß wird als Phosphoreszenz bezeichnet. Wie aus dem

Energieniveaudiagramm zu erkennen ist, ist die Wellenlänge der Phosphoreszenz im Vergleich zur Fluoreszenz weiter rotverschoben. Wie bereits erwähnt, kann die Tatsache, daß überhaupt ein Triplett-Singlett-Übergang unter Emission von Strahlung beobachtet wird, dadurch erklärt werden, daß sich die Wellenfunktion nur näherungsweise als Produkt von Spin und Bahnfunktion darstellen läßt. Durch Spin-Bahn-Kopplung und andere Phänomene erfolgt eine Mischung der Spin- und Bahnfunktion. Entsprechend der Auswahlregel ist jedoch der Triplett-Singlett-Übergang wenig wahrscheinlich. Da die Lebensdauer eines Zustandes (τ) umgekehrt proportional zum Betrag des Übergangsmoments ist, bedeutet eine niedrige Übergangswahrscheinlichkeit eine lange Lebensdauer des Zustands.

$$\tau \sim \frac{1}{(\mu)} \quad (2.2.6)$$

Wie bereits erläutert, wird durch Absorption von Licht das Niveau S^1 bevölkert. Für die Depopulation des S^1 -Niveaus sind mehrere konkurrierende Prozesse verantwortlich, so daß sich die zeitliche Änderung der S^1 -Konzentration (c_{S^1}) wie folgt beschreiben läßt:

$$\frac{dc_{S^1}}{dt} = I_a - (k_f + k_n + k_g) c_{S^1} \quad (2.2.7)$$

I_a ist die pro Zeiteinheit und Volumeneinheit neu entstandene oder, umgekehrt die pro Zeiteinheit absorbierten Quantenmolzahl an S^1 Molekülen. k_f (k_n , k_g) ist die Geschwindigkeitskonstante für den Übergang $S^1 \rightarrow S^0$ unter Lichtemission (Übergang $S^1 \rightarrow S^0$ ohne Lichtemission (strahlungslos), Übergang $S^1 \rightarrow T^1$ (Intersystem crossing)). Im stationären Zustand ändert sich die Konzentration von S^1 nicht, so daß aus (2.2.7) folgt:

$$I_a = (k_f + k_n + k_g) c_{S^1} \quad (2.2.8)$$

Die pro Zeiteinheit als Fluoreszenzlicht emittierten Quanten(I_f) lassen sich gemäß Gleichung (2.2.9) berechnen:

$$I_f = k_f c_{S^1} \quad (2.2.9)$$

Aus (2.2.8) und (2.2.9) berechnet sich die Quantenausbeute der Fluoreszenz Φ_f zu:

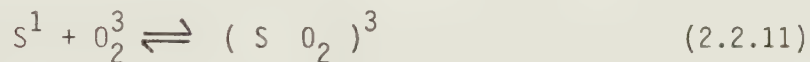
$$\Phi_f = \frac{I_f}{I_a} = \frac{k_f}{k_f + k_n + k_g} \quad (2.2.10)$$

Φ_f gibt an, wieviel Quanten an Fluoreszenzlicht im Verhältnis zu den absorbierten Quanten erhalten wird.

Wie verändert nun Sauerstoff das Fluoreszenzverhalten?

Sauerstoff ist bekanntlicherweise eines der wenigen Gase, die im Grundzustand als Triplett vorliegen und somit ein magnetisches Moment aufweisen.

Die Sauerstoffmoleküle können nun mit den Farbstoffmolekülen in unspezifische Wechselwirkung treten. Zum Beispiel kann das angeregte Farbstoffmolekül mit dem Sauerstoffmolekül einen Komplex bilden:



In diesem Komplex können sich nun Singlett- und Triplettzustände mischen. Dies führt dazu, daß die Übergänge zwischen Zuständen unterschiedlicher Multiplizität wahrscheinlicher werden. Den gleichen Effekt kann man beobachten, wenn das Farbstoffmolekül unter den Einfluß des von dem O_2 -Molekül verursachten magnetischen Feldes gerät.

Weitere Untersuchungen haben gezeigt, daß die Fluoreszenzlöschung durch Sauerstoff als Reaktion 2.Ordnung beschrieben werden kann. Die Gleichung (2.2.7) muß also bei Anwesenheit von Sauerstoff folgendermaßen modifiziert werden:

$$\frac{d \ c_{S^1}}{d \ t} = I_a - (k_f + k_n + k_g + k_q \ c_{O_2}) \ c_{S^1} \quad (2.2.12)$$

Das Glied $k_q \ c_{O_2} \ c_{S^1}$ beschreibt hierbei die strahlungslose Desaktivierung von S^1 -

Molekülen durch Sauerstoff. Die Geschwindigkeitskonstante k_q wird als Konstante der Fluoreszenzlöschung oder auch (engl.) Quenching-Konstante bezeichnet. Die Fluoreszenzausbeute bei Anwesenheit von O_2 ($\phi_f^{O_2}$) ist dann:

$$\phi_f^{O_2} = \frac{I_f}{I_a} = \frac{k_f}{k_f + k_n + k_g + k_q c_{O_2}} \quad (2.2.13)$$

Bezeichnet man mit I (I_0) die Fluoreszenzintensität bei Anwesenheit (Abwesenheit) von O_2 und berücksichtigt man, daß gilt: $I_f = \phi_f I_0$, so erhält man schließlich aus (2.2.10) und (2.2.13) die folgende Beziehung:

$$\frac{I}{I_0} = \frac{1}{1 + k_q \tau_0 \alpha \cdot p_{O_2}} \quad (2.2.14)$$

α ist die Löslichkeit von O_2 in dem betrachteten Medium und τ_0 die Fluoreszenzabklingzeit bei Abwesenheit von O_2 :

$$\tau_0 = \frac{1}{k_f + k_n + k_g} \quad (2.2.15)$$

p_{O_2} ist der O_2 -Partialdruck in dem Gas, das mit der Lösung äquilibriert ist. Gemäß dem Henry-Daltonschen Gesetz gilt:

$$c_{O_2} = \alpha \cdot p_{O_2} \quad (2.2.16)$$

Für hinreichend kleine p_{O_2} läßt sich Gleichung (2.2.14) als Reihe entwickeln und es resultiert ein linearer Zusammenhang zwischen I/I_0 und p_{O_2} . Für große p_{O_2} strebt I/I_0 asymptotisch dem Wert 0 zu. Dies bedeutet daß bei ausreichend großen O_2 -Partialdrucken eine nahezu vollständige Löschung der Fluoreszenz erreicht werden kann.

Gleichung (2.2.14) ermöglicht die Bestimmung von $k_q \tau_0$. τ_0 läßt sich dann bei Abwesenheit von Sauerstoff getrennt messen. Weitere Untersuchungen haben gezeigt, daß k_q größenordnungsmäßig den Geschwindigkeitskonstanten diffusionskontrollierter Reaktionen ähnelt. Daher kann man zumindest

näherungsweise die Theorie diffusionskontrollierter Reaktionen auf die Beschreibung der Fluoreszenzlöschung durch Sauerstoff anwenden.

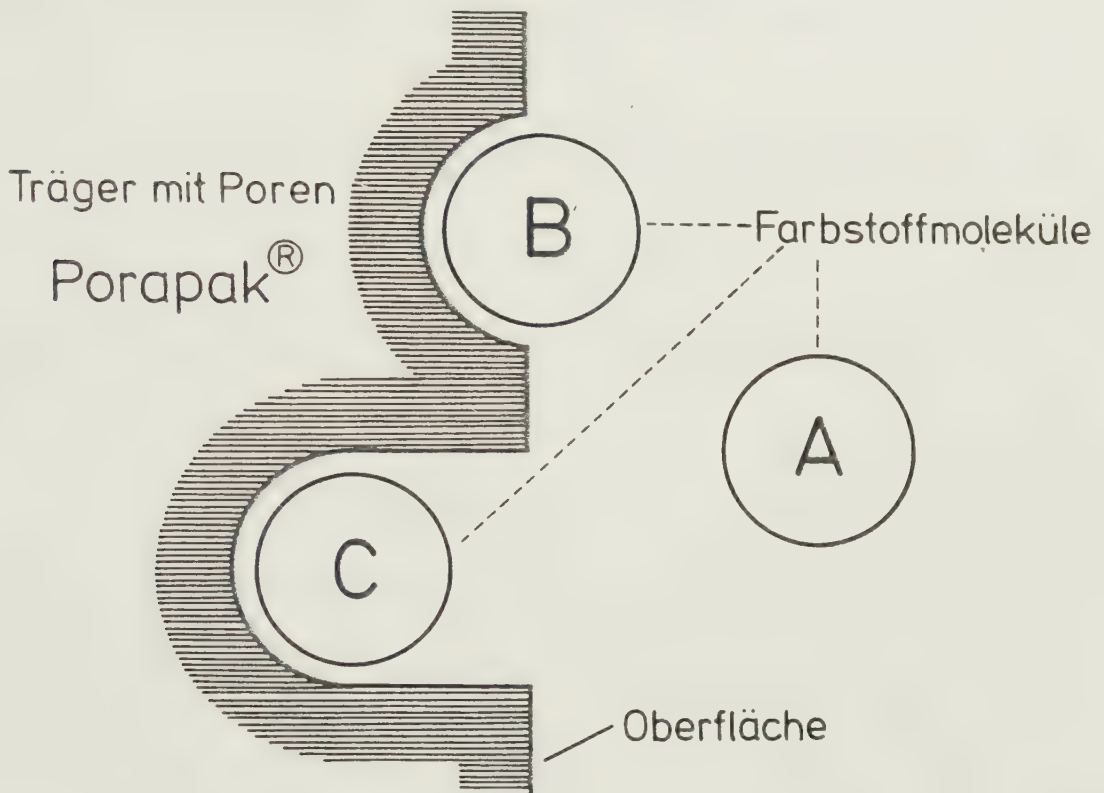


Abbildung 2.2.2 Modellvorstellungen zur Situation von Farbstoffmolekülen (vergleiche Text)

A: In Lösung, B: auf einer Oberfläche,
C: in einer Tasche des Trägermaterials

Nach einem von v. Smoluchowski angegebenen Modell { 22,23,24 } soll sich das Farbstoffmolekül, das durch eine Kugel mit Radius r approximiert wird, im Zentrum eines Koordinatensystems befinden (Fall A von Bild 2.2.2). Der Raum um das Farbstoffmolekül sei unendlich groß und in hinreichend großer Entfernung vom Zentrum soll sich die lokale O_2 -Konzentration der makroskopisch gemessenen O_2 -Konzentrationen angleichen. Da O_2 -Moleküle an der Oberfläche des Farbstoffmoleküls "verbraucht" werden, verschwindet die mikroskopisch gemessene O_2 -Konzentration an der Kugeloberfläche (und in der Kugel). Zwischen dem unendlich großen

Raum und der Kugeloberfläche besteht somit ein Konzentrationsgefälle. Es gilt nun das 2.Ficksche Gesetz auf dieses Problem anzuwenden, d.h. die Gleichung (2.1.2) für das angegebene Modell zu lösen. Eine allgemeine Lösung ist durch die folgende Gleichung gegeben { 25 } :

$$c(r,t) = (2\sqrt{D\pi t})^{-3} \iiint c_0(r') e^{-(r-r')^2/4Dt} dr' \quad (2.2.17)$$

r und r' sind Ortsvektoren, t die Zeit

Für das angegebene Modell erhält man schließlich aus (2.2.17), (vgl. { 22,23,24 }):

$$k_q = 4\pi N r D \left(1 + \frac{r}{\sqrt{\pi D t}} \right) p \quad (2.2.18)$$

N ist die Loschmidtsche Zahl, der Faktor p die Wahrscheinlichkeit für eine Reaktion.

Es muß nämlich nicht jeder Stoß zu einer Reaktion führen. Umgekehrt kann, wenn bereits durch Wechselwirkungen über eine gewisse Entfernung eine Reaktion erfolgt, p auch Werte über 1 annehmen. Für hinreichend große Zeiten vereinfacht sich Gleichung (2.2.18) zu:

$$k_q = 4\pi N r D p (\sqrt{Dt} \gg r) \quad (2.2.19)$$

Der Diffusionskoeffizient läßt sich in erster Näherung mittels der Stockes-Einsteinschen Beziehung abschätzen:

$$D = \frac{k T}{3\eta \pi \frac{r}{2}} \quad (2.2.20)$$

Aus (2.2.19) und (2.2.20) erhält man schließlich:

$$k_q = \frac{8 R T}{3\eta} p \quad (2.2.21)$$

Bei der Ableitung von Gleichung (2.2.21) wurden einige, zum Teil recht

grobe, Vereinfachungen durchgeführt. Daher ist (2.2.21) lediglich als erste Abschätzung von k_q zu werten { 26}. Andererseits lassen sich jedoch einige wesentliche Aspekte mittels Gleichung (2.2.21) diskutieren. Insbesondere zeigt Gleichung (2.2.21) daß, k_q deutlich von der Viskosität des Lösungsmittels (bzw. der Lösung) beeinflusst wird.

Der Sauerstoff-Partialdruck(p_{O_2}), bei dem das Fluoreszenzsignal gerade um die Hälfte gelöscht wird ($I/I_0=0,5$) sei p_{50} . Es gilt dann:

$$k_q \tau_0 \propto p_{50} = 1 \quad (2.2.22)$$

In Tabelle (2.2.1) ist nun der berechnete p_{50} für ein mittelgroßes organisches Farbstoffmolekül wie z.B. Pyren in Abhängigkeit von der Viskosität des Lösungsmittels angegeben. Da sich beim Übergang von der Gasphase in die flüssige Phase die Viskosität um Größenordnungen ändert, ist auch der p_{50} für die unterschiedlichen Medien sehr unterschiedlich.

Tabelle 2.2.1

Medium	η (cP)	k_q (l/mol sec)	p_{50} (torr)	p'_{50} (torr)
Gas	0,02	$1,3 \cdot 10^{12}$	$1,5 \cdot 10^{-2}$	$1,5 \cdot 10^{-2}$
Wasser	1	$2,5 \cdot 10^{10}$	6,1	6,0
Glycerin	1500	$1,7 \cdot 10^7$	8900	364

In diesem Zusammenhang sei noch die Situation diskutiert, bei der sich das Farbstoffmolekül an der Oberfläche eines Festkörpers befindet (Fall B von Bild 2.2.3) {27} . Auch hier läßt sich ein Modell entwickeln, das den Vorstellungen von v. Smoluchowski ähnelt. Wieder befinde sich vor der Oberfläche des Farbstoff-Moleküls ein unendlich großer mit Flüssigkeit oder Gas gefüllter Raum. In hinreichend weiter Entfernung vom Farbstoff-Molekül soll die lokale O_2 -Konzentration sich der makroskopisch

gemessenen O_2 -Konzentration angleichen. An der Oberfläche des Farbstoff-Moleküls in demselben soll dagegen die O_2 -Konzentration verschwinden. Die allgemeine Lösung dieses Problems ist wieder durch Gleichung (2.2.17) gegeben, wobei jedoch die Integrationsgrenzen und $c_0(r')$ dem vorliegenden Problem angepaßt werden müssen. Insbesondere ändern sich die Integrationsgrenzen da nur noch ein Teil der Oberfläche des Farbstoff-Moleküls für die Wechselwirkung mit den O_2 -Molekülen zur Verfügung steht. Dies äußert sich darin, daß der Ausdruck für k (also Gleichung (2.2.18)) durch einen Geometriefaktor modifiziert wird. Da der Geometriefaktor Werte zwischen 0 und 1 annehmen kann, ist zu erwarten, daß k_q für an Oberflächen adsorbierte Farbstoff-Moleküle zumindest größenordnungsmäßig dem k_q gelöster Farbstoff-Moleküle ähnelt. Insgesamt sollte also die Abschätzung von Tabelle (2.2.1) in guter Näherung auch für oberflächenadsorbierte Farbstoffe zutreffen. Die Viskosität des Mediums vor der Oberfläche sollte somit die Fluoreszenz durch O_2 wesentlich beeinflussen.

Es fragt sich nun, ob es für die Messung des Sauerstoff-Partialdrucks mittels der Fluoreszenz einen günstigen P_{O_2} -Bereich gibt, oder ob es egal ist, in welchem Teil der Fluoreszenzkurve man arbeitet? In diesem Zusammenhang muß man fordern, daß das Meßsystem möglichst empfindlich sein soll. Dies bedeutet, daß für kleine Änderungen des O_2 -Partialdrucks möglichst große Änderungen von $Q (= I/I_0)$ erhalten werden sollen. Gleichung (2.2.14) läßt sich wie folgt vereinfachen:

$$Q = \frac{I}{I_0} = \frac{1}{1 + \alpha' p_{O_2}} \quad (2.2.23)$$

mit $\alpha' = \alpha \cdot k_q \cdot \tau_0$

Für die relative Änderung von Q bei Änderungen von p_{O_2} gilt:

$$\frac{\Delta Q}{Q} = \frac{1}{Q} \frac{dQ}{dp_{O_2}} \Delta p_{O_2} = - \frac{\alpha' \Delta p_{O_2}}{1 + \alpha' p_{O_2}} \quad (2.2.24)$$

Für große O_2 -Partialdrücke geht $\Delta Q/Q$ gegen 0, so daß in diesem Fall selbst relativ große Änderungen von p_{O_2} lediglich kleine Änderungen von Q bewirken. Dieser Bereich ist für das anstehende Meßproblem also denkbar ungeeignet. Für kleine p_{O_2} -Werte ist die relative Änderung von Q gleich der Änderung des O_2 -Partialdruckes. Dies ist gemäß Gleichung (2.2.24) die

maximale Antwort, die man überhaupt erreichen kann. Also wäre im Hinblick auf die Empfindlichkeit der Methode die Messung bei möglichst kleinen p_{O_2} -Werten anzustreben.

Andererseits soll jedoch bei vorgegebenem Meßfehler in Q (ΔQ) der relative Fehler in p_{O_2} möglichst klein sein:

$$\frac{\Delta p_{O_2}}{p_{O_2}} = \frac{1}{p_{O_2}} \frac{dp_{O_2}}{dQ} \Delta Q = - \frac{\Delta Q}{Q(1-Q)} \quad (2.2.25)$$

Für kleine Werte von Q wird der Nenner von (2.2.25) klein und somit der relative Fehler in p_{O_2} ziemlich groß. Für $Q \approx 1$ ergibt sich ebenfalls ein kleiner Nenner und folglich ein großer relativer Fehler in p_{O_2} . In einem Bereich, in dem $p_{O_2} \sim p_{50}$ gilt, ist dagegen der Quotient in Gleichung (2.2.25) minimal. Hier ergibt sich also ein kleiner relativer Fehler für p_{O_2} . Um diese Analyse noch zu verdeutlichen wurde in Abbildung (2.2.4) die Abhängigkeit des relativen Fehlers in p_{O_2} vom $\log p_{O_2}$ graphisch dargestellt. Der für die Messung günstige Bereich ist evident.

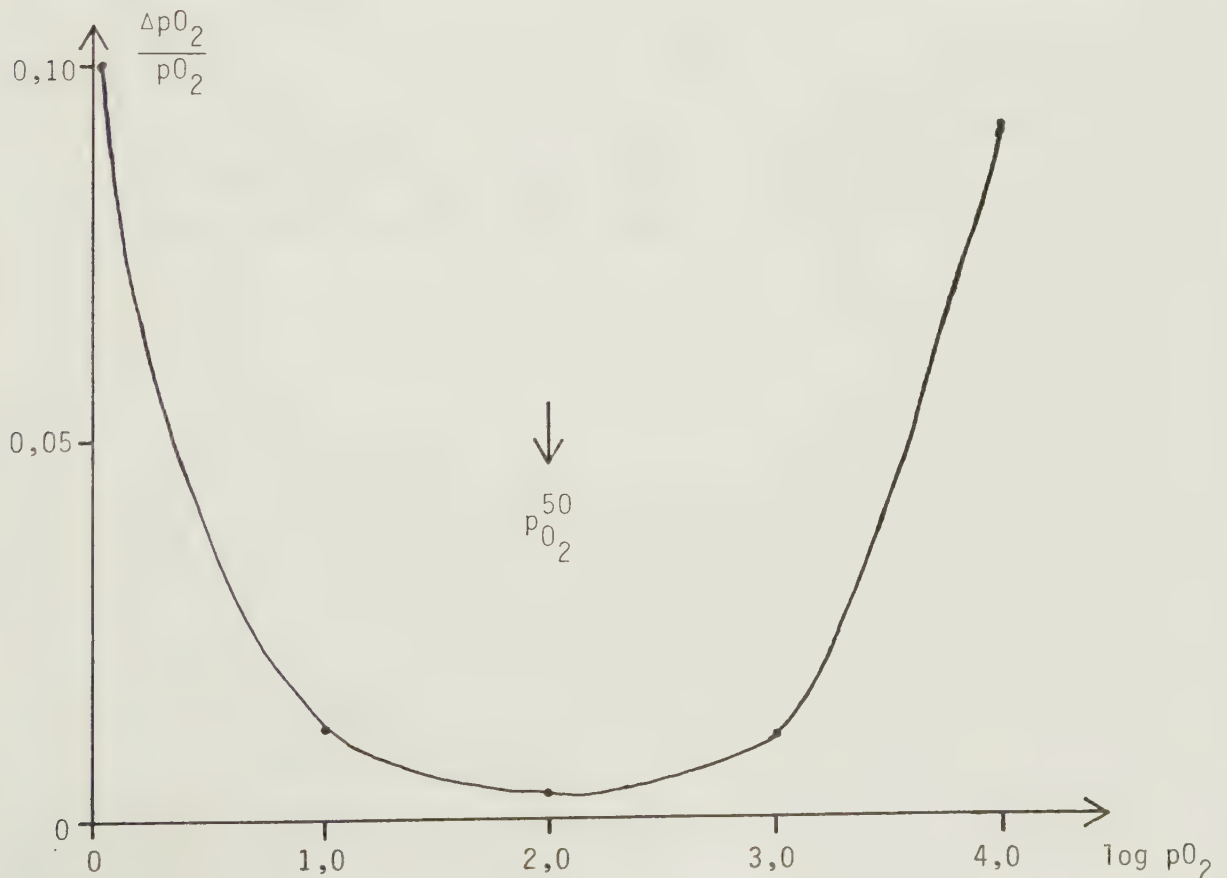


Abbildung 2.2.4

Abhängigkeit des relativen Fehlers in p_{O_2} vom $\log p_{O_2}$ ($\alpha' = 0,01$ [1/mmHg])

Im übrigen ist bekanntlicherweise Q als Quotient aus I und I_0 definiert. I und I_0 sind proportional zu den Schreiberausschlägen und können nur mit einer endlichen Genauigkeit gemessen werden. Der Meßfehler in $I_0(I)$ sei ΔI_0 (ΔI). Gemäß dem Fehlerfortpflanzungsgesetz gilt dann:

$$\frac{\Delta Q}{Q} = \sqrt{\left(\frac{\Delta I}{I}\right)^2 + \left(\frac{\Delta I_0}{I_0}\right)^2} \quad (2.2.26)$$

Der relative Meßfehler in Q läßt sich gemäß Gleichung (2.2.26) aus den relativen Meßfehlern von I und I_0 berechnen. Interessant ist die Situation, in der eine fast vollständige Löschung des Fluoreszenzsignals vorliegt. In diesem Fall wird der relative Fehler in I_0 besonders groß und der Fehler in Q wird weitgehend durch den Fehler in I_0 bestimmt. Während sich also $\Delta Q/Q$ beim Durchfahren des Meßbereichs deutlich ändert, ist ΔQ dagegen im gesamten Meßbereich annähernd konstant. Auf dieser Voraussetzung beruht auch die in Bild (2.2.4) dargestellte Kurve.

Zusammenfassend läßt sich die eingangs gestellte Frage dahingehend beantworten, daß es günstig ist, möglichst in einem p_{O_2} -Bereich zu arbeiten der in der Größenordnung vom p_{50} liegt. Für die Praxis bedeutet dies umgekehrt, daß man für unterschiedliche Meßprobleme die jeweils geeigneten Farbstoffe aussuchen muß. α' hängt nämlich von τ_0 ab. Für jeden p_{O_2} -Bereich gibt es somit ein günstiges τ_0 und daher nur eine gewisse Auswahl an geeigneten Farbstoffen.

3. Apparativer Aufbau

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist zunächst einen O_2 -Detektor zu konstruieren, der möglichst kurze Einstellzeiten aufweist. Der entscheidende Teil eines derartigen Detektors ist die O_2 -empfindliche Schicht. Daher ist der geeignete Aufbau einer derartigen Schicht von wesentlicher Bedeutung für die Eigenschaften des O_2 -Detektors. Der allgemeine Aufbau einer derartigen Schicht ist bereits von Lübberts et. al. diskutiert worden { 10,11,12} . Wie bereits in Abschnitt 2.1 erwähnt wurde, muß man, um möglichst kleine Einstellzeiten zu erhalten, sowohl die Schutzschicht über der O_2 -empfindlichen Schicht, als auch die Farbstoffschicht möglichst dünn halten. Ideal wäre, wenn man auf eine Schutzschicht ganz verzichten könnte und die Dicke der Farbstoffschicht von molekularer Dimension wäre. In diesem Fall sollten sehr kurze Einstellzeiten möglich sein. Da Lübberts mit Farbstofflösungen arbeitet, ist bei diesem Aufbau eine Schutzschicht zwingend erforderlich. Geeigneter ist dagegen eine von Peterson und Fitzgerald {17} beschriebene Schicht, bei der das Farbstoff-Molekül an ein Trägermaterial adsorbiert ist. Über eine ähnliche Anordnung ist bereits früher berichtet worden { 28,29,30,31} . Da der Farbstoff an das Trägermaterial adsorbiert ist, bedarf es keiner Schutzschicht. Weiterhin bilden die Farbstoff-Moleküle an der Oberfläche wahrscheinlich eine monomolekulare Schicht, so daß die Dicke der Farbstoffschicht also im Bereich molekularer Dimensionen liegt. Wie eingangs erwähnt, kann man bei einer derartigen Anordnung kurze Einstellzeiten erwarten.

Zur Herstellung der Schicht wird das feinkörnige Trägermaterial in einer Lösung des Farbstoffes suspensiert und nach etwa 2 Minuten abfiltriert und getrocknet. Die Farbstoff-Moleküle sind dann an die Körnchen des Trägermaterials adsorbiert. Die mit Farbstoff beschichteten Körnchen werden dann auf einer festen Unterlage möglichst so fixiert, daß eine einkörnige Schicht resultiert. Dies bedeutet, daß die Körnchen möglichst dicht gepackt sind, und daß jedes Körnchen die Unterlage berührt.

Da die weiteren Untersuchungen gezeigt haben, daß eine geeignete Auswahl an Farbstoff und Trägermaterial für eine zufriedenstellende Funktion des O_2 -Detektors von essentieller Bedeutung sind, sollen die experimentellen Befunde, die mit derartigen Schichten erhalten wurden, erst in Abschnitt 4 besprochen werden.

Zur Messung der Fluoreszenz durch Sauerstoff wurde nun die in Abbildung 3.1

skizzierte Apparatur benutzt.

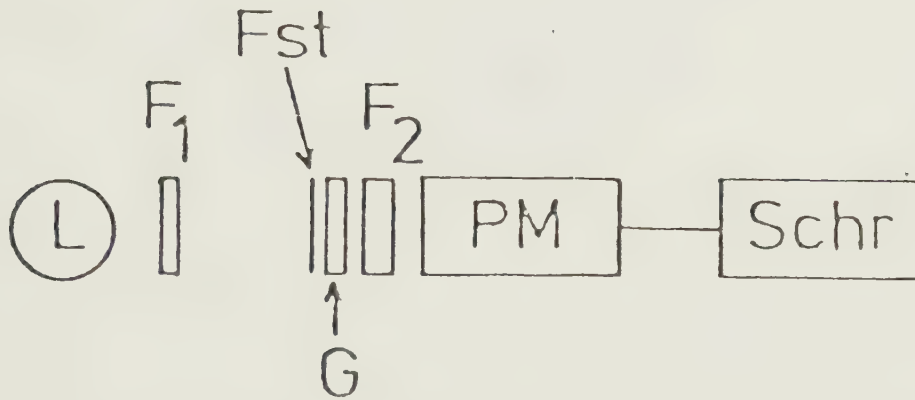
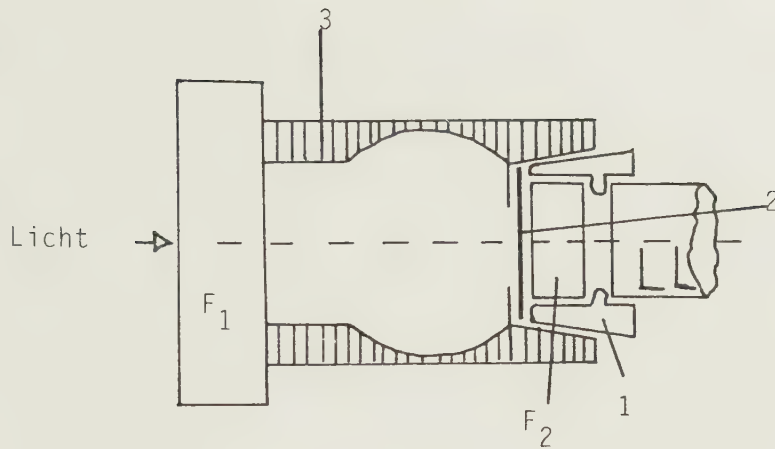
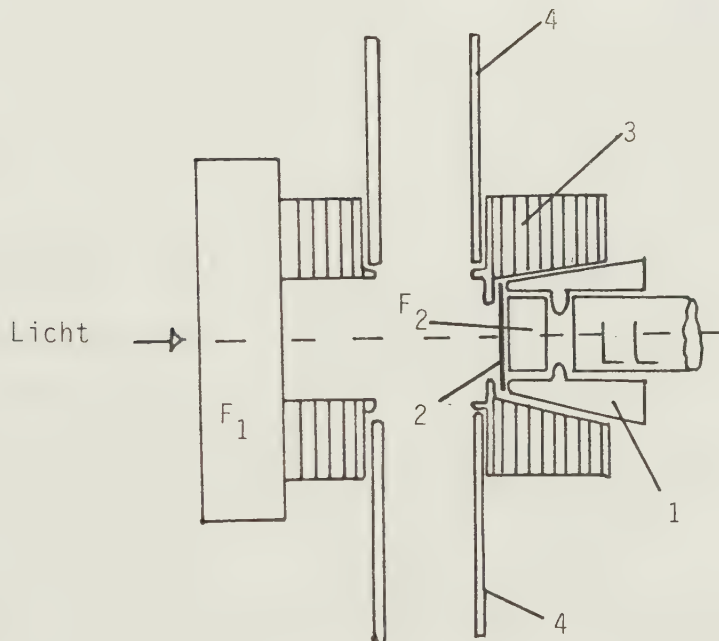


Abbildung 3.1 Skizze zur Meßapparatur, Bezeichnung der einzelnen Komponenten: L:Lampe; F₁:Interferenzfilter; F_{st}:O₂-empfindliche Schicht; G:Glasplatte; F₂:Langpaßkante; PM:Strahlungsdetektor; Schr:elektronische Verarbeitung des Signals

Die O₂-empfindliche Schicht (F_{st}) befindet sich auf einer Glasplatte oder einem ähnlichen stabilisierenden Element. Mittels einer Lichtquelle (L) und eines Interferenzfilters (F₁) wird Licht einer bestimmten Wellenlänge erzeugt. Als Lichtquelle wurde entweder eine Deuteriumlampe (Fa. Zeiss/ Oberkochen) oder eine 150 W Xe-Hochdrucklampe (XBO 150 W, Osram; Netzgerät M 303 der Firma PRA; Lampengehäuse ALH 210 der Firma PRA, Vertrieb in Deutschland: Fa. Burleigh, Funkstadt) oder eine Hg-Lampe (Fa. Phywe, Göttingen) eingesetzt. Während die Deuteriumlampe und die Xe-Hochdrucklampe ein kontinuierliches Spektrum liefern, findet man bei der Hg-Lampe im wesentlichen ein Linienspektrum. Da die Interferenzfilter eine beachtliche Bandbreite aufweisen{32} wird mit der oben angegebenen Anordnung kein monochromatisches Licht im strengen Sinne erzeugt, sondern lediglich ein gewisser Wellenlängenbereich ausgefiltert. Benutzt man dagegen die Hg-Lampe, so wird vorwiegend die jeweilige Hg-Linie durchgelassen und somit ein fast monochromatisches Licht erzeugt. Andererseits sind die Xe-Hochdrucklampe und die Deuteriumlampe stabiler als die Hg-Lampe. Es hängt somit vom jeweiligen Meßproblem ab, welche Lampe gerade benutzt wird. Die Interferenzfilter



Vertikalschnitt



Horizontalschnitt

Abbildung 3.2: Darstellung der Meßkammer

oben: Vertikalschnitt; unten: Horizontalschnitt

1: Halter für Filter F_2 und Lichtleiter (LL); 2: Tesafilmstreifen mit auf Silica-Gel aufgezo- genem Fluoreszenz Gelb; 3: Wand der Meßkammer (aus Kunststoff oder Metall); 4: Tubus zum Füllen der Meßkammer

wurden entweder von der Fa. Schott/Mainz oder von der Fa. Eppendorf/Hamburg geliefert. Hinter dem Interferenzfilter befindet sich dann die eigentliche Meßkammer durch die das zu analysierende Gas strömt. Die genaue Konstruktion dieser Kammer ist in Abbildung 3.2 angegeben. Die Meßkammer ist aus einem Metallblock gefertigt, der mit insgesamt vier Bohrungen versehen ist. Die weiteren Konstruktionsmerkmale können aus Abbildung 3.2 ersehen werden.

Genau gegenüber des Interferenzfilters ist die O_2 -empfindliche Schicht angebracht, die somit im Auflicht beleuchtet wird. Hinter der O_2 -empfindlichen Schicht befindet sich eine Langpaßkante. Der Filter ist so ausgewählt, daß er gerade das Anregungslicht weitgehend abschwächt und das emittierte Licht (das wie in 2.2 erläutert wurde, zur Anregung rotverschoben ist) möglichst ungehindert durchläßt {32} . Die Langpaßkanten wurden ebenfalls von der Fa. Schott/Mainz geliefert. Hinter der Kante ist ein Lichtleiter angebracht, der das emittierte Licht einem Photovervielfacher zuführt. Als Photodetektor haben wir zumeist den Typ IP 28 der Firma RCA benutzt (deutscher Lieferant: Alfred Neye Enatechnik/Quickborn). Der Anodenstrom wurde dann mit einem von D.P.F. Möller {33} entwickelten universellen Meßverstärker mit DC-Kompensationszweig gemessen und das Signal von einem Kompensationsschreiber der Fa. Siemens/Erlangen registriert. Der Meßverstärker ermöglicht die Unterdrückung hoher Gleichspannungsanteile. Da die Anordnung einen beachtlichen Falschlichtanteil hat, ist die Unterdrückung von Gleichspannungsanteilen sehr wertvoll.

Zusätzlich befindet sich an der Kammer eine Widerstandsheizung. Über die angelegte Spannung kann die Temperatur der Meßkammer eingestellt werden.

Bei der vorliegenden Anordnung wird das gesamte Fluoreszenzlicht gemessen. Dies hat den Vorteil, daß relativ hohe Lichtintensitäten auf den Detektor auftreffen. Allerdings werden spektrale Veränderungen, wie z.B. die Verschiebung der Emissionsbande nicht erfaßt.

In Bild 3.3 ist eine andere Version des O_2 -Detektors skizziert, die insbesondere für viele biologische Anwendungen äußerst interessant ist. Bei dieser sogenannten Sondenausführung wird ein zweiarmiger Lichtleiter (LL) eingesetzt. Um große Meßsignale zu erhalten sollen die Fasern der Arme im gemeinsamen Teil statistisch gemischt sein. An einem Arm des Lichtleiters befindet sich der Interferenzfilter (F_1) und die Lichtquelle (L). Hier wird in analoger Weise zur

oben dargestellten Version ein "monochromatisches" Anregungslicht erzeugt. Auf einer Glasplatte (G) oder einem anderen Träger befindet sich wieder die O_2 -empfindliche Schicht (F_{st}). Das emittierte Licht wird dann über den zweiten Arm des Lichtleiters zur Langpaßkante (F_2) geleitet und dort in gleicher Weise, wie bereits beschrieben wurde, quantitativ gemessen. Die Sondenausführung hat den Vorteil, daß man den Meßkopf an fast jeden beliebigen Ort bringen kann. Dies ermöglicht z.B. auch pO_2 Messungen in Körperhöhlen oder im Boden, was eine Reihe interessanter Anwendungen eröffnet. Andererseits muß die O_2 -empfindliche Schicht jedoch von einer schwarzen O_2 -durchlässigen Membran überzogen werden. Das aus dem ersten Arm austretende Anregungslicht wird nämlich in undefinierter Weise an der Umgebung reflektiert und das Fremdlicht variiert ebenfalls erheblich, wenn man den Lichtleiter bewegt. Insgesamt resultieren hieraus Artefakte, die gegebenenfalls größer als das eigentliche Signal sein können. Durch Anbringen einer schwarzen Membran werden jedoch definierte optische Verhältnisse erreicht. Da die schwarze Membran eine endliche Dicke hat, wird jedoch das System wieder relativ langsam. Gelegentlicherweise ist es von Vorteil zusätzlich eine Sauerstoff-durchlässige Streuschicht vor der sauerstoffempfindlichen Schicht anzubringen. Hierdurch werden in der Regel höhere Fluoreszenzintensitäten erhalten.

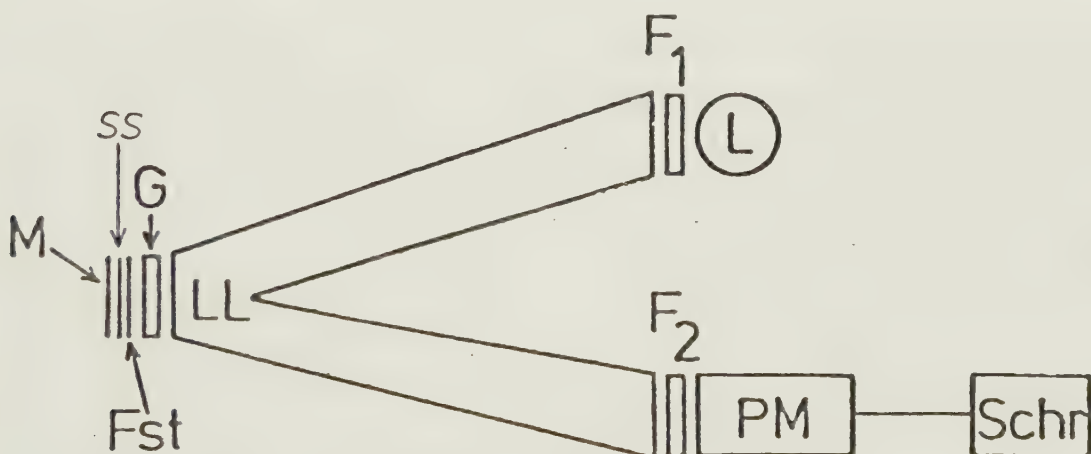


Abbildung 3.3 Skizze zur Sondenausführung des O_2 -Detektors

M: schwarze Silikonmembran; Fst: O_2 -empfindliche Schicht;
G: Glasplatte; LL: Y-förmiger Lichtleiter; F_1 : Interferenz-
filter (zur Erzeugung von monochrom. Licht); F_2 : Langpaß-
kante; PM: Photomultiplier; Schr: Schreiber; SS: weiße
 O_2 -durchlässige Streuschicht (z.B. Teflonfolie)

Wie bereits erwähnt können bei der in Abbildung 3.1 angegebenen Anordnung Falschlichteffekte nicht völlig verhindert werden. Daher ist die Messung der absoluten Fluoreszenzintensität relativ schwierig. Es erweist sich deshalb als vorteilhaft, die Größe F_{rel} zu messen, die wie folgt definiert ist:

$$F_{rel} = \frac{F_{N_2} - F}{F_{N_2} - F_{O_2}} \quad (3.1)$$

F_{N_2} (F_{O_2}) ist das Fluoreszenzsignal, das erhalten wird wenn die Meßkammer mit N_2 (O_2) gefüllt ist. Für F_{N_2} (F_{O_2}) kann man also direkt den Schreiberausschlag (in V oder cm) einsetzen. Durch Einsetzen von (2.2.23) in Gleichung (3.1) erhält man:

$$F_{rel} = \frac{p_{O_2}}{\delta + \alpha * p_{O_2}} \quad (3.2)$$

δ und α^* sind für das System charakteristische Konstanten. Die Auftragung von F_{rel} gegen p_{O_2} wird als Eichkurve bezeichnet. Bei diesem Verfahren werden also zwei Gase (z.B. N_2 und O_2) ausgewählt um wohldefinierte Bezugspunkte festzulegen. Natürlich ist es auch möglich bei Bedarf andere Gasgemische zur Festlegung der Eichpunkte auszusuchen. So ist es z.B. in der Atmungsphysiologie häufig erforderlich p_{O_2} -Werte zwischen 160 und 100 mm Hg zu messen. Hier wären Gasgemische von einem p_{O_2} von 200 mm Hg und 90 mm Hg als Eckpunkte der Eichkurve günstig.

Wie bereits erwähnt, wird das Fluoreszenzsignal durch Fremdlichtanteile verfälscht:

$$F = F' + F^* \quad (3.3.)$$

Hierbei ist F das gemessene Fluoreszenzsignal, F' das wahre Fluoreszenz-

signal und F^* der Falschlichtanteil. Gleichung (2.2.22) gilt nur für die Größe F' . In analoger Weise läßt sich F_{N_2} als Summe aus wahren Fluoreszenzsignal und Fremdlichtanteil darstellen:

$$F_{N_2} = F'_{N_2} + F^* \quad (3.4)$$

Durch Umformung und Berücksichtigung von Gleichung (2.2.23) erhält man schließlich:

$$F = \frac{F'_{N_2} - F'}{\alpha' p_{O_2}} + F^* = \frac{F_{N_2} - F}{\alpha' p_{O_2}} + F^* \quad (3.5)$$

Gemäß Gleichung (3.5) sollte also die Auftragung von F (also dem Meßsignal) gegen $(F_{N_2} - F)/p_{O_2}$ eine Gerade ergeben, aus deren Achsenabschnitt F^* bestimmt werden kann. Dies ermöglicht eine Abschätzung des Fremdlichtanteils.

Wie bereits erläutert wurde, ist p_{50} eine wesentliche Größe, da hierdurch der günstigste Meßbereich festgelegt ist. Es fragt sich nun, ob p_{50} direkt aus F_{rel} bestimmt werden kann. Hierzu sei eine weitere Größe, nämlich p'_{50} definiert, für die gilt, daß bei $p'_{50} : F_{rel} = 0,5$

$$\frac{p'_{50}}{\delta + \alpha' p'_{50}} = 0,5 \quad (3.6)$$

Zur Bedeutung von δ vgl. Gleichung (3.2)

In Tabelle (2.2.1) ist nun neben p_{50} auch p'_{50} angegeben. Man kann erkennen, daß in dem betrachteten System p_{50} und p'_{50} sowohl für Flüssigkeiten als auch für Gase praktisch identisch sind. Für viele Zwecke genügt es deshalb lediglich F_{rel} zu diskutieren ohne einen wesentlichen Fehler zu machen.

4. Messungen mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen

4.1 Fluoreszenz-Gelb ("Fluorescent Yellow[®]")

Wie bereits erwähnt, sind die ersten Untersuchungen durch eine Arbeit von Peterson und Fitzgerald {17} inspiriert worden. Diese Autoren haben für ihre Untersuchungen "Fluorescent Yellow[®]" (FY) der Firma Pylam Product Corp. eingesetzt (Fa. Pylam Product Corp., 218th Street, Queens Village, NY 11429, USA). Die Firma Pylam hat freundlicherweise eine Probe dieses Farbstoffes zur Verfügung gestellt, so daß die ersten Experimente ebenfalls mit diesem Farbstoff durchgeführt werden konnten. Leider handelt es sich hierbei um ein firmeneigenes Produkt, so daß weitere Informationen über Molekulargewicht, chemische Zusammensetzung und Struktur nicht zugänglich waren. Aufgrund der guten Löslichkeit in Äthanol und der weiteren physikalisch-chemischen Eigenschaften, muß jedoch angenommen werden, daß die Verbindung noch hydrophile Eigenschaften aufweist.

Das Absorptionsspektrum des Farbstoffes wurde mit einem Photometer Typ DMR 21 der Fa. Zeiss (Oberkochen) aufgenommen. Da das Molekulargewicht der Verbindung nicht bekannt ist, konnte in Abbildung (4.1.1) lediglich das relative Absorptionsspektrum einer äthanolischen Lösung angegeben werden. Es wurde also der relative Extinktionskoeffizient (ϵ_r) in Abhängigkeit von der Wellenlänge (λ) aufgetragen. ϵ_r ist folgendermaßen definiert:

$$\epsilon_r(\lambda) = \frac{E(\lambda)}{E_{\max}} \quad (4.1.1)$$

$E(\lambda)$ ist die bei der Wellenlänge λ gemessene Extinktion und $E_{\max}$ die maximal beobachtete Extinktion. Das sichtbare Spektrum besteht aus einer unstrukturierten Bande, die von 360 bis 500 nm reicht und bei 440 nm ein Maximum aufweist.

Weiterhin wurden 20 mg Fluoreszenz-Gelb und 50 mg Polyvinylpyrrolidon in 10 ml Äthanol gelöst und 400 μ l dieser Lösung auf eine Glasplatte gegeben und getrocknet. Es resultiert eine mit einer Farbstoff-haltigen Polyvinylpyrrolidon-Schicht überzogene Glasplatte. Das relative Absorptionsspektrum einer derartigen Schicht ist ebenfalls in Abbildung (4.1.1) dargestellt. Man kann erkennen, daß die Bande etwas verbreitert ist

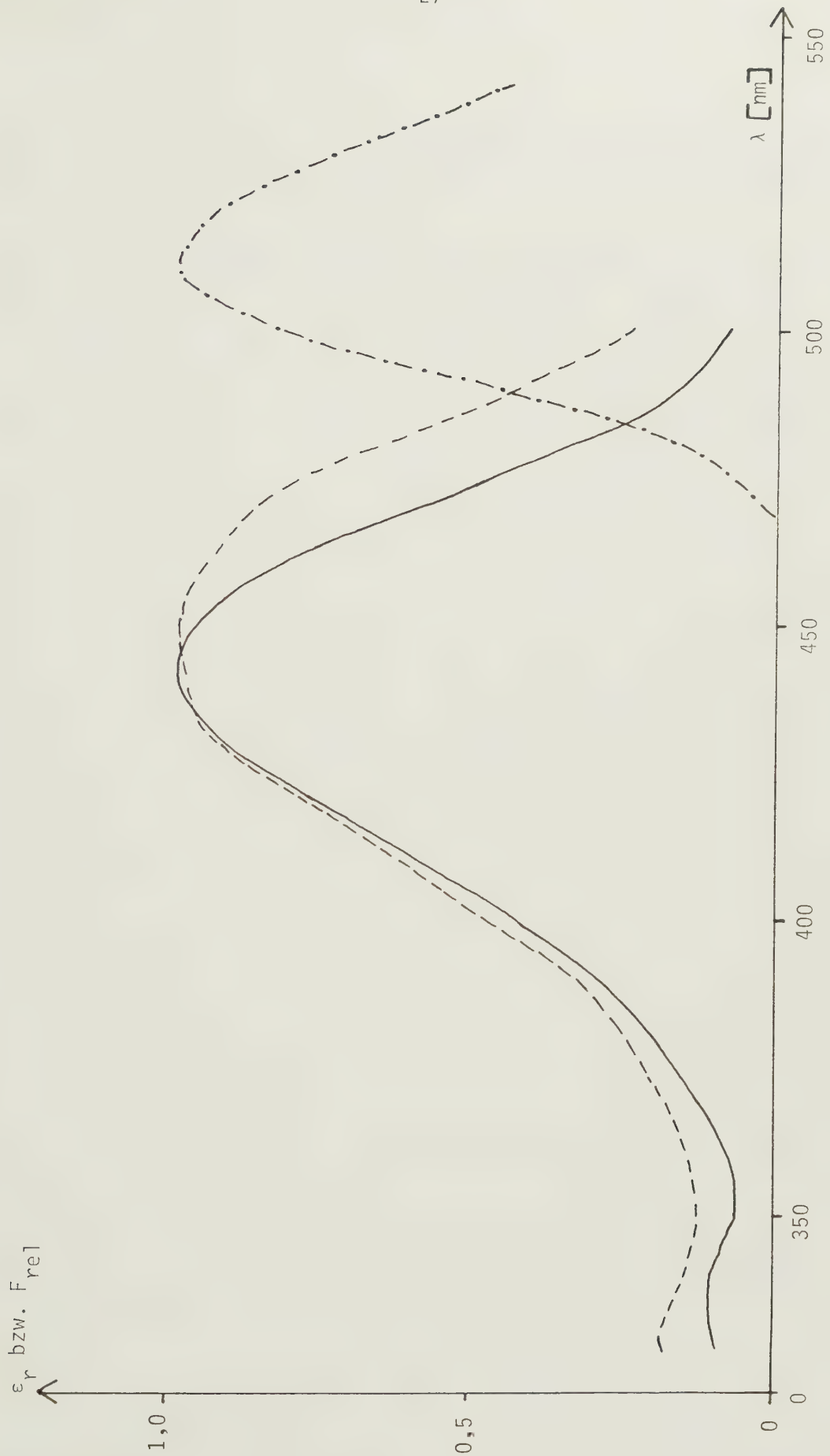


Abbildung 4.1.1: relatives Absorptions- und Emissionsspektrum von Fluoreszenzgelb

- Absorptionsspektrum einer Lösung des Farbstoffes in Äthanol
- - - Absorptionsspektrum einer Farbstoff-haltigen Polyvinylpyrrolidon-Schicht
- · - Emissionsspektrum von Fluoreszenzgelb auf Silica-Gel aufgezogen (vgl.Text)

und das Maximum nun bei 450 nm liegt. Diese Untersuchung ist deshalb interessant, weil hierdurch die von Peterson und Fitzgerald verwendete Schicht {17} simuliert wird.

Neben dem Absorptionsspektrum wurde auch das Fluoreszenzspektrum des Farbstoffes gemessen. Hierzu wurde in Anlehnung an Peterson und Fitzgerald eine O₂-sensitive Schicht folgendermaßen hergestellt: 20 mg Fluoreszenzgelb und 50 mg Polyvinylpyrrolidon wurden in 10 ml absolutem Äthanol gelöst und in dieser Lösung 1,8 g Silica-Gel suspendiert. Die Suspension wurde ca. 5 min heftig geschüttelt und anschließend rasch abfiltriert. Es bleiben mit dem Farbstoff (und Polyvinylpyrrolidon) beschichtete Silica-Gel-Körnchen zurück, die bei 70°C getrocknet werden. Die Silica-Gel Körnchen werden dann auf die klebrige Seite eines Tesa-Film Streifens (Fa. Beiersdorf AG, Hamburg) gestreut und so verteilt, daß möglichst eine einkörnige Schicht resultiert (vgl. Kapitel 3). Diese O₂-sensitive Schicht wurde dann für die Fluoreszenzmessung eingesetzt. In späteren Experimenten wurde auf das Polyvinylpyrrolidon verzichtet, ohne daß es zu nennenswert anderen Ergebnissen kam. Für die Messung des Fluoreszenzspektrums wurde anstelle des Photovervielfachers in Abbildung (3.2) ein Optischer Maß-Analysator (OMA) der Fa. Princeton Applied Research (PAR) eingesetzt {34,35}. Das wesentliche Meßelement bei diesem Gerät ist eine Videcon-Röhre, die aus einer Anordnung von 500x500 einzelnen Photodioden besteht. Während nun bei einem konventionellen Photometer die Wellenlänge durch Verschiebung des Austrittsspalt eines Monochromators eingestellt wird, fehlt bei dem OMA-System der Austrittsspalt am Monochromator. Da durch das Gitter des Monochromators das austretende Licht bezüglich der Wellenlänge dispergiert ist, werden nun die einzelnen Spalten der Videcon-Röhre von Licht unterschiedlicher Wellenlänge beleuchtet. Dies ermöglicht eine gleichzeitige Messung des gesamten Spektrums. In Abbildung (4.1.1) ist nun auch das relative Fluoreszenzspektrum einer O₂-sensitiven Schicht angegeben. Wie beim relativen Absorptionsspektrum wird hier auch F_{rel} in Abhängigkeit von λ dargestellt. F_{rel} ist wie folgt definiert:

$$F'_{rel}(\lambda) = \frac{F(\lambda)}{F_{max}} \quad (4.1.2)$$

$F(\lambda)$ ist das Fluoreszenzsignal bei der Wellenlänge λ und F_{max} das maximale Fluoreszenzsignal. Das Fluoreszenzspektrum reicht von etwa

480 bis 560 nm, wobei das Maximum bei 510 nm liegt. Wie bereits in Kapitel (2.2) diskutiert, ist das Fluoreszenzsignal rot verschoben, der langwellige Teil der Absorptionsbande und der kurzwellige Teil der Emissionsbande überlappen sich. Die Anregung erfolgte bei 366 nm, als Langpaßkante wurde ein 410 nm-Filter der Fa. Schott/Mainz verwendet. Das Fluoreszenzsignal ist bezüglich der Wellenlängenabhängigkeit der Meßgeräte nicht korrigiert.

In Abbildung (4.1.2) ist das unkorrigierte Anregungsspektrum des Fluoreszenzgelb angegeben. Unter dem Anregungsspektrum versteht man die Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität von der Anregungswellenlänge. Hierzu wurde die in Abbildung (4.1.3) skizzierte Anordnung benutzt.

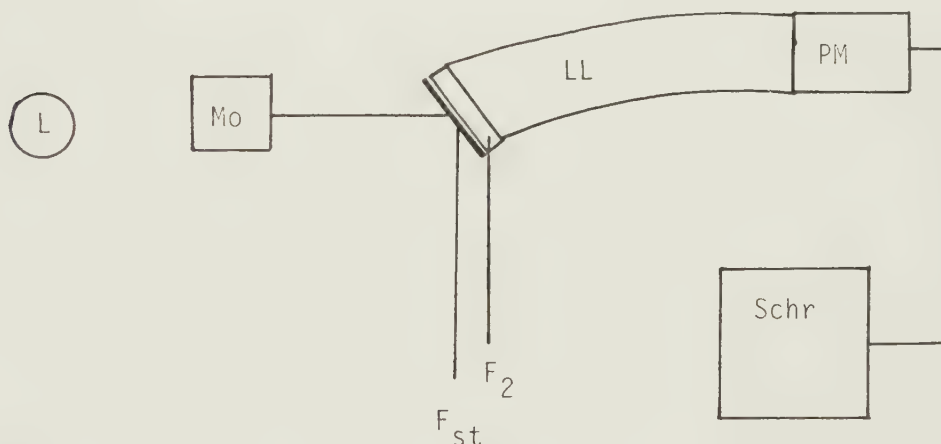


Abbildung 4.1.3

Skizze der zur Messung des Anregungsspektrums verwendeten Apparatur. Bezeichnung siehe Text.

Mit einer Xenon-Hochdrucklampe (L) und einem Monochromator (Mo) wird Licht definierter Wellenlänge erzeugt. Das monochromatische Licht wird dann unter einem Winkel von ca. 60° auf die O₂-empfindliche Schicht (F_{st}) gestrahlt. Das emittierte Licht gelangt durch eine geeignete Langpaßkante (F₂) und einen Lichtleiter (LL) zum Photovervielfacher (PM). Mit einem Meßgerät (Schr) wird die Lichtintensität erfaßt und registriert.

In der vorliegenden Anordnung wird also das gesamte Fluoreszenzlicht gemessen. Als Meßgerät wurde ein Photonen-zähler der Fa. Ortec/Brookdeal

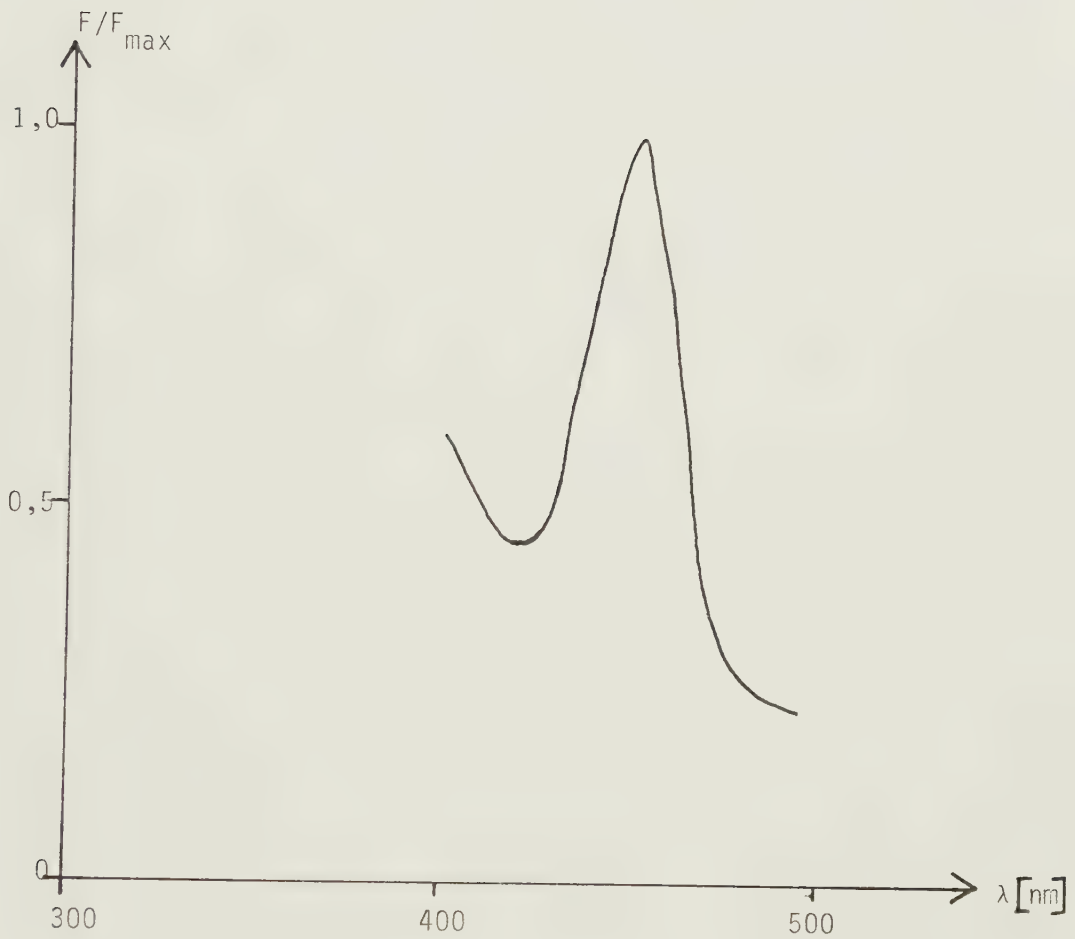


Abbildung 4.1.2

Anregungsspektrum des Fluoreszenzgelb auf Silica-Gel aufgezogen
(vgl. Text)

benutzt { 36 }. Dieses Gerät hat den Vorteil, daß es über einen weiten Bereich linear ist, ein günstiges Signal-Rauschverhältnis aufweist und einen extrem niedrigen Dunkelstrom hat. Der Winkel unter dem die Schicht beleuchtet wurde, wurde so optimiert, daß ein möglichst großes Signal entstand. Das Anregungsspektrum wurde nicht bezüglich der Lampenintensität und der spektralen Eigenschaften der optischen Komponenten korrigiert. Wie bereits beschrieben, wurde auch hier auf $F_{\max}$ normiert. Erwartungsgemäß ähnelt das Anregungsspektrum dem Absorptionsspektrum; das Maximum liegt hier bei 450 nm, was mit dem in Abbildung (4.1.1) angegebenen Spektrum recht gut übereinstimmt.

Zur Messung der Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität vom O_2 -Partialdruck (pO_2) wurde die O_2 -empfindliche Schicht in die in Abbildung (3.1) und (3.2) skizzierte Apparatur eingesetzt. Hier wird wieder das gesamte emittierte Licht gemessen, dessen Wellenlänge größer als die "Kante" (= die durch die Langpaßkante festgelegte Wellenlänge, vgl. { 32 }) ist gemessen. Auf eine spektrale Analyse des Fluoreszenzlichts wurde bewußt verzichtet. Vorteilhaft bei dieser Anordnung ist, daß relativ hohe Lichtintensitäten den Detektor erreichen. Allerdings werden spektrale Veränderungen, wie z.B. die Verschiebung der Emissionsbande nicht direkt erfaßt. Da mit einem erheblichen Anteil an Fremdlicht gerechnet werden muß, wurde nicht die Fluoreszenzintensität selbst, sondern die in Gleichung (3.1) definierte Größe F_{rel} untersucht. Hierzu wurden in die Meßkammer Gase mit unterschiedlichem O_2 -Partialdruck geleitet und das jeweilige Fluoreszenzsignal gemessen. In Abständen von ca. 15-10 min wurde jeweils das Fluoreszenzsignal von N_2 und O_2 gemessen. In Abbildung (4.1.4) ist nun die Eichkurve für O_2/N_2 und O_2/CO_2 Gemische angegeben. Die Gasmische wurden mit Hilfe einer Gasmischpumpe Typ 1M 300/a-F der Firma Wösthoff (Bochum) hergestellt. Die Reproduzierbarkeit der einzelnen Meßpunkte betrug etwa 4 %. Im Rahmen dieser Genauigkeit ergibt sich kein Unterschied zwischen O_2/N_2 und O_2/CO_2 Gasmischen. Dies bedeutet, daß CO_2 das Fluoreszenzsignal nicht beeinflußt. Um Gleichung (3.5) zu testen wurde in Abbildung (4.1.5) F in Abhängigkeit von $(F_{N_2} - F)/pO_2$ dargestellt. In Übereinstimmung mit Gleichung (3.5) ergibt sich eine Gerade, aus deren Achsenabschnitt F^* bestimmt werden kann. F^* ist hier negativ, da das Signal elektronisch so kompensiert wurde, daß $F_{O_2} \approx 0$. Für die vorliegende Meßserie wurde erhalten:

$$F^* = -2,36 \pm 0,08 \quad (= 3,4 \%) \quad (n=9)$$

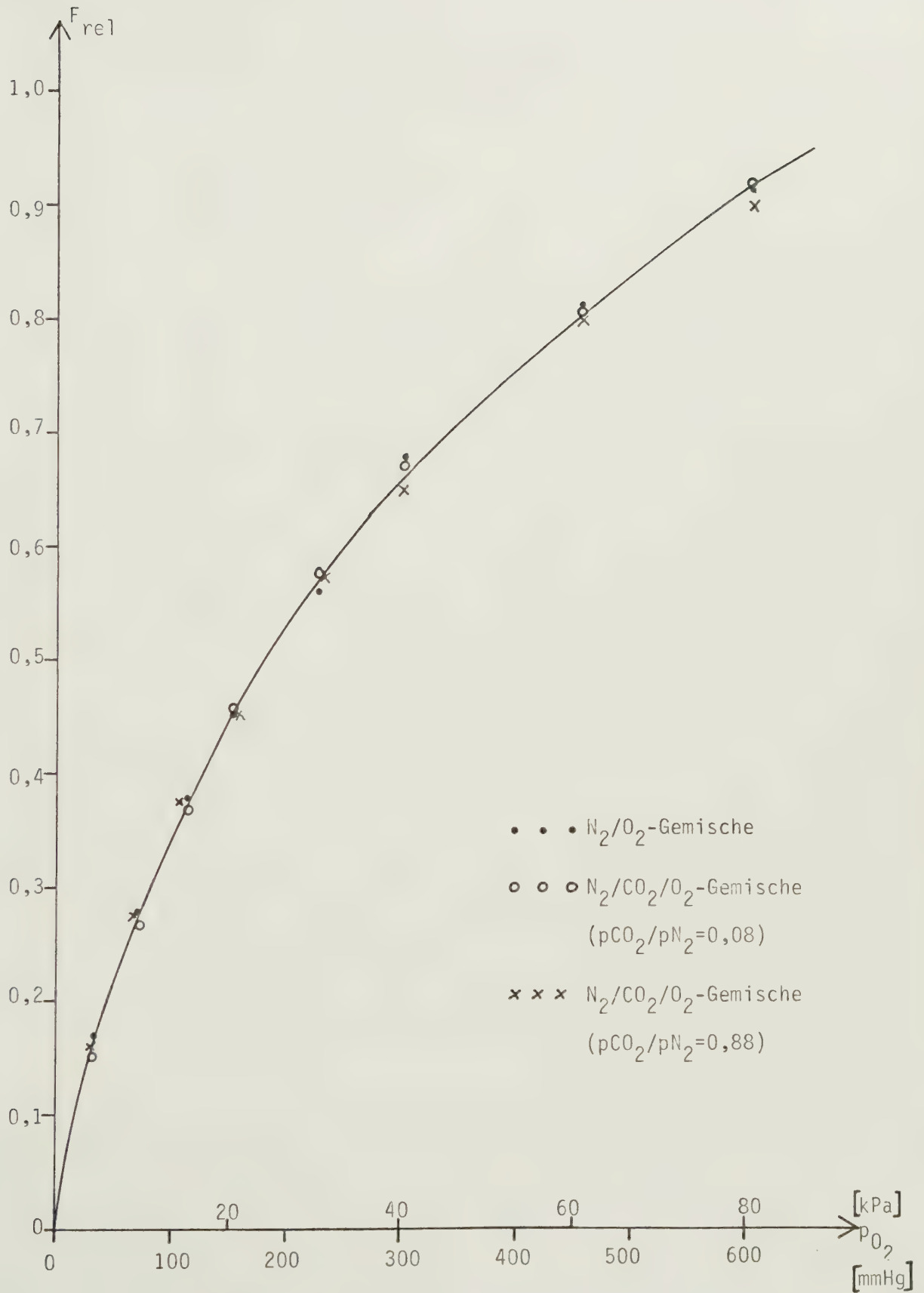


Abbildung 4.1.4 Eichkurve für trockene O_2/N_2 und $O_2/CO_2/N_2$ -Gemische (Fluoreszenzgelb auf Silica-Gel)

Die gute Reproduzierbarkeit für das Falschlicht der Fluoreszenz (F^*) spricht dafür, daß man Gleichung (3.5.) und somit auch Gleichung (3.1) und (3.2) anwenden kann. Die gemessene Eichkurve zeigt im übrigen den durch Gleichung (3.5) vorausgesagten Verlauf.

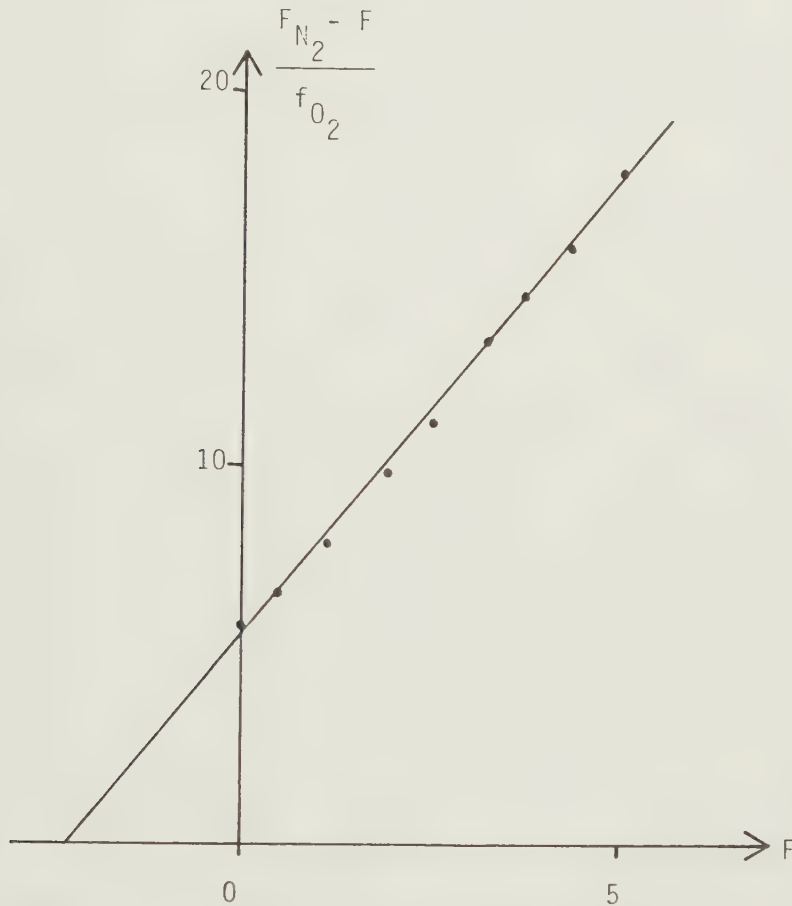


Abbildung 4.1.5 Auftragung von $F_{N_2} - F / f_{O_2}$ gegen F ; ($f_{O_2} = p_{O_2} / p_B$);

F und F_{N_2} werden als Schreiberausschläge in cm angegeben;
 p_B ist der Barometerdruck
Da das Schreibersignal kompensiert wurde, werden negative Werte für F^* erhalten.

In einem weiteren Experiment wurden nun die Gase angefeuchtet. Hierzu wurden die Gase wie beschrieben gemischt und dann durch eine Fritte geblasen. Die Fritte ist direkt über der Wasseroberfläche angeordnet, so daß das Gas über dem Wasser gespreitet wird. Durch dieses Verfahren wird vermieden, daß feine Wassertröpfchen durch den Gasstrom mitgerissen werden, und man erreicht eine ausreichende Befeuchtung der Gase. Die

Messung mit angefeuchteten Gasen ergab, daß das Fluoreszenzsignal sehr instabil war. Während bei der Messung von trockenen Gasen z.B. das N_2 -Signal nur eine leichte Drift zeigt (die durch wiederholte Eichung korrigiert wurde), veränderte sich das N_2 -Signal bei der Messung von feuchten Gasen um ca. 20 %. Dies bestätigt die bereits von Schmidt { 16 } beschriebene Querempfindlichkeit des Fluoreszenzsignals zum Wasser-Gehalt der Gasprobe. Aus diesem Grund hat Schmidt die Entwicklung eines O_2 -Detektors auf Basis der Fluoreszenzlöschung nicht weiter verfolgt.

Um die Unbrauchbarkeit der angegebenen Methode weiter zu verdeutlichen wurde in einem gesonderten Experiment durch die Meßkammer ein- und ausgeatmet und das Fluoreszenzsignal kontinuierlich registriert. Abbildung (4.1.6) zeigt eine solche Originalregistrierung. Während bei der Expiration verbrauchte Atemluft und somit O_2 -arme Luft abgegeben wird, zeigt sich in der Registrierung ein Ansteigen der O_2 -Konzentration. Es werden also mit der angegebenen Anordnung völlig falsche Resultate erhalten, was durch die Querempfindlichkeit zu H_2O bedingt ist. Die angegebene Anordnung ist also für die Messung von biologischen Proben, die in der Regel H_2O -haltig sind, denkbar ungeeignet.

Es bleibt nun zu überlegen, durch welche Ursache die Querempfindlichkeit zu Wasser bewirkt wird. Silica-Gel ist eine hydrophile Substanz und es ist zu erwarten, daß Silica-Gel mit den H_2O -Molekülen in der Gasphase in Wechselwirkung tritt. Man kann sich nun vorstellen, daß durch derartige Wechselwirkungen die mikroskopische Umgebung des Farbstoffmoleküls erheblich verändert wird, was zu den beobachteten Abweichungen führen kann. Die Konsequenz aus dieser Überlegung ist, daß man anstelle von Silica-Gel ein hydrophobes Trägermaterial verwenden muß.

In einem weiteren Experiment wurde deshalb Porapak B, ein vernetztes Polystyrol (Fa. Dow Chemical), das in der Gaschromatographie als stationäre Phase Verwendung findet, als Trägermaterial eingesetzt. Hierzu wurden 1,8 g Porapak B in einer Lösung von 0,018 g Fluoreszenzgelb und 0,054 g Polyvinylpyrrolidon (spätere Untersuchungen wurden ohne Polyvinylpyrrolidon durchgeführt, da die erhobenen Befunde durch diese Substanz nicht beeinflußt wurden) in 10 ml absolutem Äthanol suspendiert und die Suspension ca. 10 min intensiv geschüttelt. An-

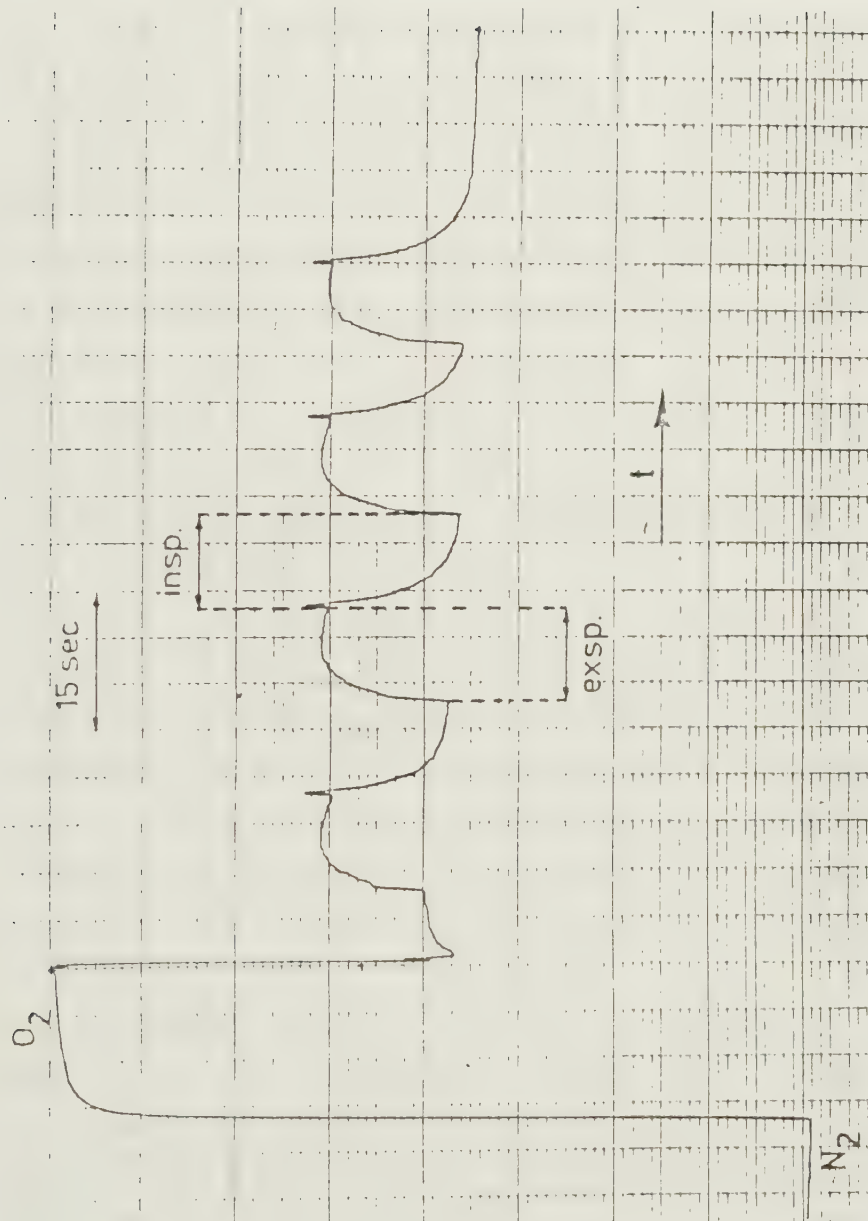


Abbildung 4.1.6 Originalregistrierung beim Atmen durch die Meßkammer
des O_2 -Detektors; Trägermaterial Silica-Gel

schließlich wurden die Körnchen abfiltriert und getrocknet. Dann wurde wie bereits beschrieben, das Material als einkörnige Schicht auf einem Tesa-Film Streifen verteilt.

Mit dieser Schicht wurden nun erneut Eichkurven von trockenen und feuchten N_2/O_2 und N_2/CO_2 Gemischen aufgenommen. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist in Abbildung (4.1.7) angegeben. Man kann erkennen, daß im Rahmen der Meßgenauigkeit das Signal weder durch CO_2 noch durch den H_2O -Gehalt der Gasprobe beeinflußt wird. Die Verwendung von hydrophobem Trägermaterial hat also eindeutig zu einer wesentlichen Verbesserung des Systems geführt. Erst durch diese Änderung ist ein Einsatz der Methode für die Untersuchung von biologischen Proben überhaupt möglich. Weiterhin bestätigt das Ergebnis die Vermutung, daß die Querempfindlichkeit zu H_2O im wesentlichen durch Wechselwirkungen der H_2O -Moleküle mit dem Trägermaterial verursacht wird. (vgl. auch { 37,38,39 }).

In Abbildung (4.1.8) ist das Ergebnis ähnlicher Experimente mit N_2O/O_2 und N_2/O_2 Gemischen dargestellt. Auch hier hat weder N_2O noch H_2O einen Einfluß auf das Fluoreszenzsignal. Die mittlere Reproduzierbarkeit der Einzelmessungen betrug 3 %.

Um nun weiter zu verdeutlichen, daß die Verwendung von hydrophobem Trägermaterial zu einer wesentlichen Verbesserung der Methode führt, wurde wieder das Fluoreszenzsignal beim Atmen durch die Meßkammer registriert. Das Resultat dieses Experimentes ist in Abbildung (4.1.9) dargestellt. Man kann erkennen, daß nun der erwartete Verlauf sowohl qualitativ, als auch quantitativ richtig angezeigt wird. Diese Kurve belegt, daß die angegebene Anordnung für die Untersuchung von Atemgasen einsetzbar ist.

Da in der Medizin häufig verdampfbare Anästhesiemittel Verwendung finden, ist es für die Anwendung interessant zu fragen, wie diese Substanzen das Fluoreszenzsignal beeinflussen. Hierzu wurde die Abhängigkeit der Fluoreszenz von dem Gehalt an Ethrane® (2-Chlor-1,1,2-trifluor-äthyl difluormethyläther) und Halothan® (2-Brom-2-Chlor-1,1,1-Trifluoräthan) untersucht. Die Gasgemische aus N_2 und O_2 wurden mit Hilfe eines Manometers in Stahlflaschen gemischt und der O_2 -Gehalt dann mit dem Oxygen Analysator OA 250 (Fa. Taylor Servomex) exakt bestimmt. Die Gase wurden dann durch einen Verdampfer der Fa. Dräger/Lübeck geleitet, wobei eine definierte Konzentration an Ethrane oder

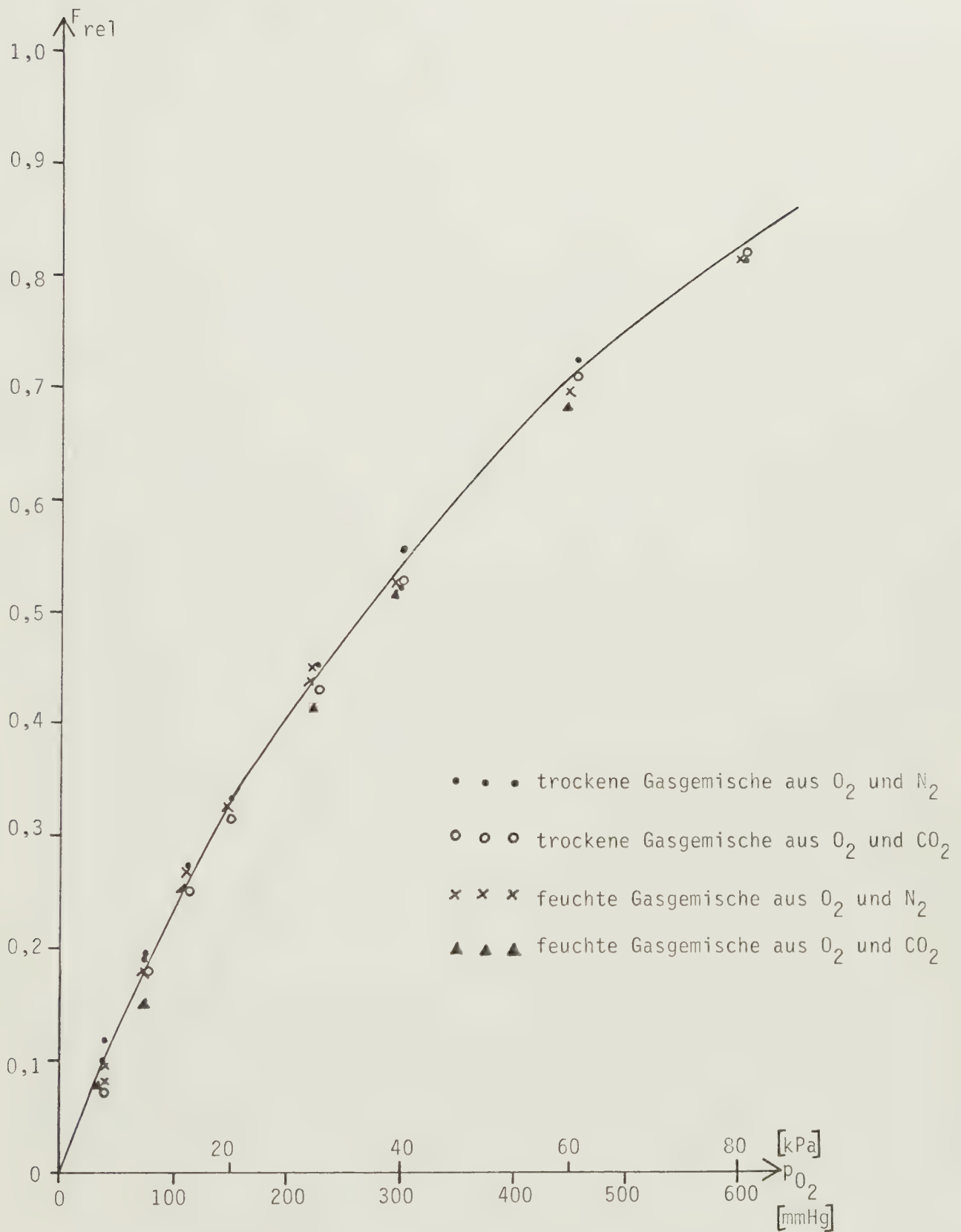


Abbildung 4.1.7 Eichkurven von trockenen und feuchten N_2/O_2 und N_2/CO_2 -Gemischen (Fluoreszenzgelb auf Porapak B, siehe Text).

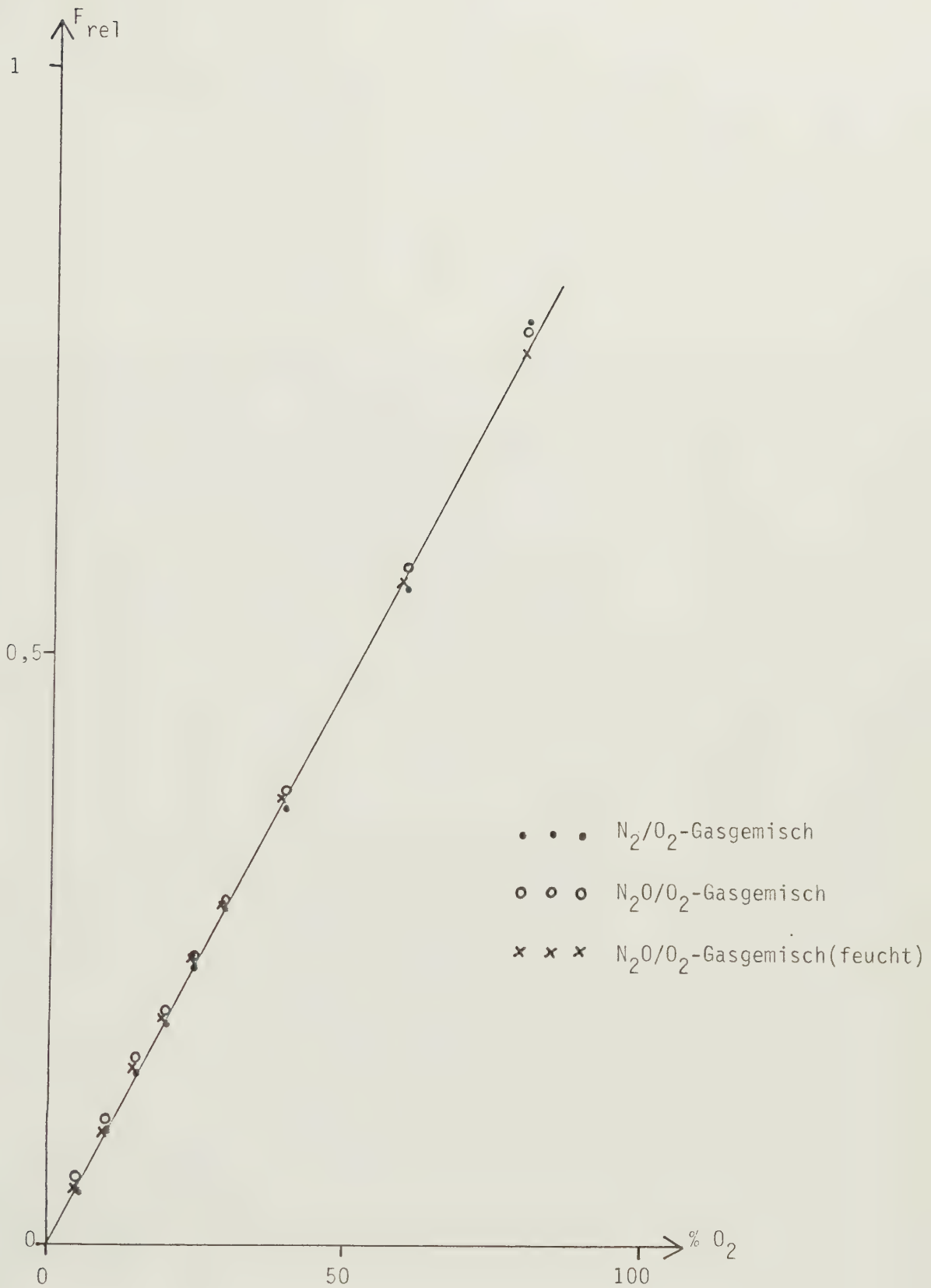


Abbildung 4.1.8 Eichkurve trockener und feuchter N_2O/O_2 , sowie N_2/O_2 -Gemische

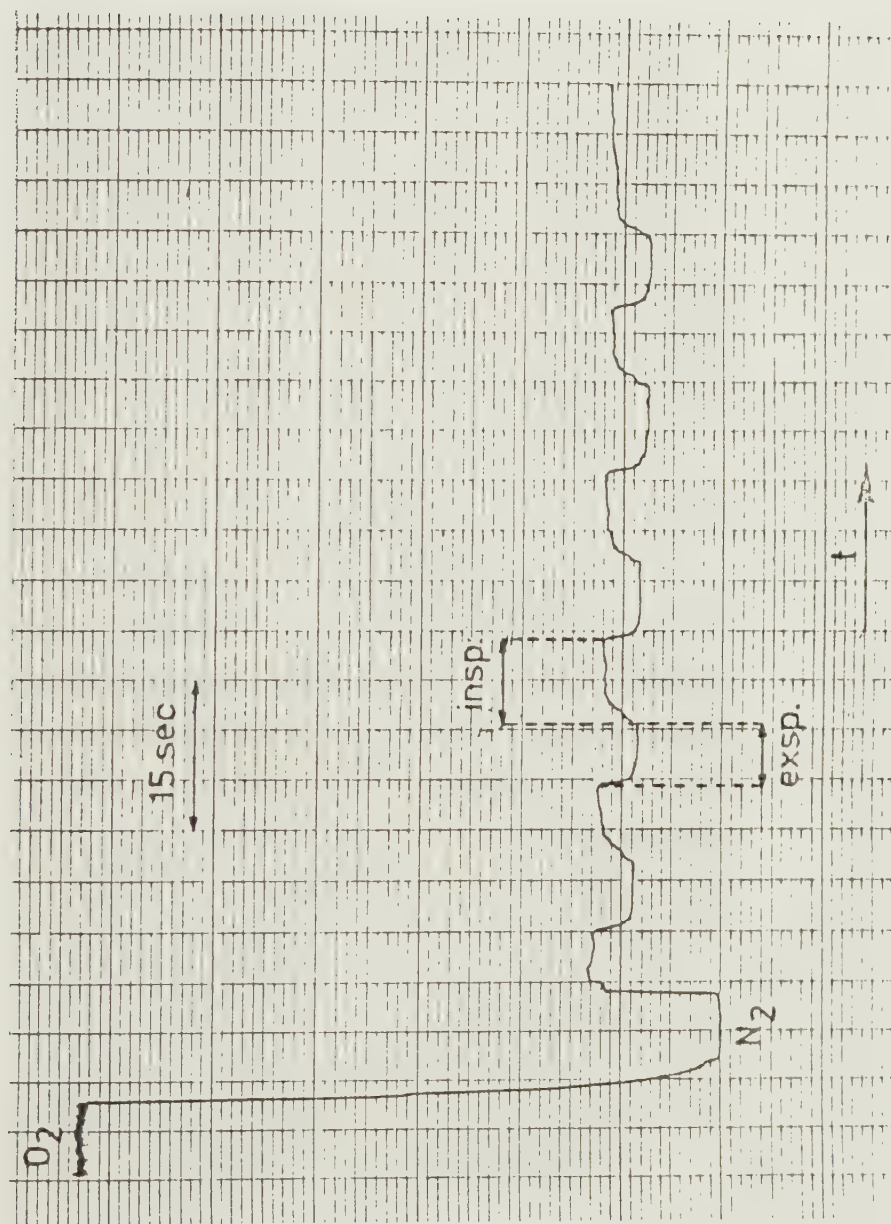


Abbildung 4.1.9 Originalregistrierung beim Atmen durch die Meßkammer
des O_2 -Detektors; Trägermaterial Porapak[®] B

Halothan eingestellt wurde. Hierbei zeigte sich eine erhebliche Verschiebung sowohl von F_{O_2} als auch von F_{N_2} . Während z.B. bei N_2/O_2 Gemischen $F_{N_2}-F_{O_2}$ bei etwa 16 cm Schreiber Ausschlag war, betrug diese Größe unter gleichen Meßbedingungen für das Gasgemisch mit 5% Ethrane 13 cm. Weiterhin hatten sich auch die Absolutsignale deutlich verschoben. Um so überraschender war es, daß die Eichkurve sich nur unwesentlich änderte, wie aus Abbildung (4.1.10) zu erkennen ist.

Gerade an diesem Beispiel zeigt sich der Wert der Eichkurve. Während die Absolutsignale großen Schwankungen unterliegen können, bleibt die Eichkurve weitgehend konstant. Für die Praxis bedeutet dies, daß man bei Änderung der Konzentration an verdampfbarem Anästhetikum eine erneute Eichung mit zwei definierten Gasgemischen durchführen muß und dann die Eichkurve direkt übertragen kann. Die Eichkurve läßt sich z.B. dann in einem Kleinrechner speichern und man kann dann durch eine einfache Zweipunkteichung reproduzierbare Resultate für den gesamten Meßbereich erhalten. Da die verdampfenden Anästhetika durchweg hydrophobe Substanzen sind, ist es sehr unwahrscheinlich, daß es durch Wahl geeigneter Farbstoffe und Trägermaterialien gelingt, den Einfluß der Anästhetika zu eliminieren. Da man nämlich keine Querempfindlichkeit zu H_2O haben darf, muß man unbedingt hydrophobes Trägermaterial und hydrophobe Farbstoffe einsetzen. Der Einfluß der Anästhetika auf das Fluoreszenzsignal läßt sich wieder durch Wechselwirkung der Anästhetikamoleküle mit dem Trägermaterial und dem Farbstoff erklären. In Tabelle (4.1.1) sind die Meßwerte noch einmal detailliert angegeben. Man kann erkennen, daß die Reproduzierbarkeit etwa 1% beträgt. Bei weiteren Untersuchungen zeigte sich jedoch, daß für das Fluoreszenzgelb die Unabhängigkeit des Signals vom Feuchtigkeitsgehalt der Probe nur unter bestimmten Bedingungen gegeben ist. Um dieses Problem näher zu untersuchen, wurden äthanolische Lösungen mit unterschiedlicher Konzentration dieses Farbstoffes hergestellt und wie beschrieben auf Porapak Q aufgezogen. Bei dieser Versuchsreihe wurde kein Polyvinylpyrrolidon verwendet. Als Maß für die Menge an Farbstoff, die auf das Trägermaterial aufgezogen ist, wurde die folgende Größe verwendet:

$$V = \frac{c_{FS} V_{LSG}}{m_T} \quad (4.1.3)$$

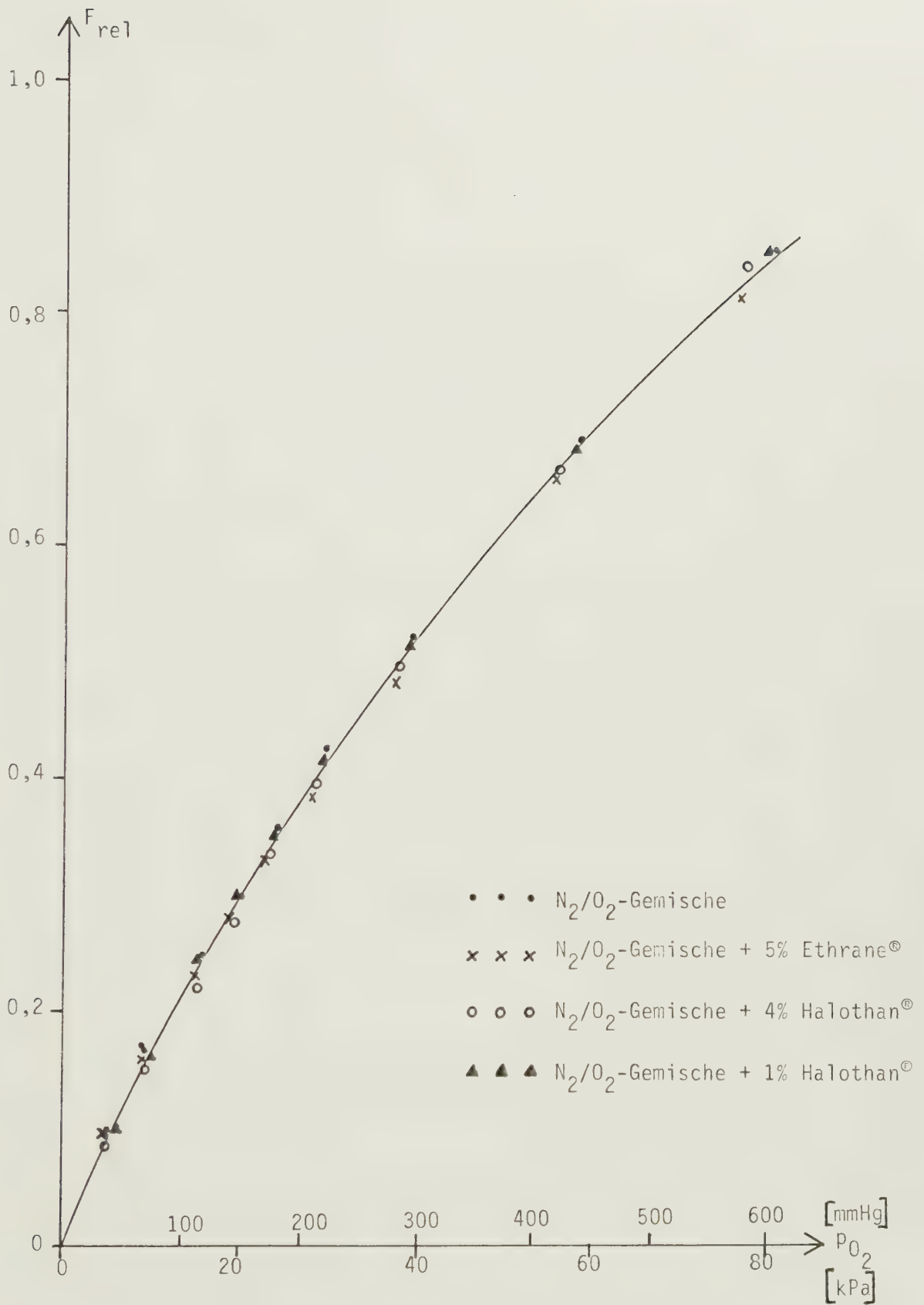


Abbildung 4.1.10 Einfluß von verdampfbaren Anästhesiemitteln auf die Eichkurve von N_2/O_2 -Gemischen (es wurden trockene Gase eingesetzt)

Tabelle 4.1.1

Reproduzierbarkeit der Messung von F_{rel}

pO_2 mmHg	F_{rel} 1. Messung	F_{rel} 2. Messung	F_{rel} 3. Messung	$\bar{F}_{rel}$
38,8	0,100	0,095	0,094	$0,096 \pm 0,003$ (3,1%)
74,5	0,170	0,168	0,168	$0,169 \pm 0,001$ (0,6%)
119,0	0,258	0,249	0,255	$0,254 \pm 0,005$ (2,0%)
150,4	0,311	0,303	0,307	$0,307 \pm 0,004$ (1,3%)
182,9	0,368	0,363	0,363	$0,365 \pm 0,003$ (0,8%)
224,0	0,428	0,428	0,423	$0,426 \pm 0,003$ (0,7%)
297,5	0,531	0,525	0,525	$0,527 \pm 0,003$ (0,7%)
441,0	0,709	0,695	0,697	$0,700 \pm 0,008$ (1,1%)
606,9	0,867	0,862	0,868	$0,866 \pm 0,003$ (0,4%)

Es wurden drei unabhängige Messungen der Größe F_{rel} an N_2/O_2 -Gemischen durchgeführt. Einzelmeßwerte, Mittelwert, die Standardabweichung und der Variationskoeffizient (Maß für die Reproduzierbarkeit) sind angegeben.

Hierbei ist c_{FS} die Konzentration des Farbstoffes und V_{LSG} das Volumen der Lösung (≈ 5 ml) in der die Masse m_T an Porapak Q suspendiert wurden. Da die Menge des adsorbierten Farbstoffs nicht notwendigerweise proportional zu c_{FS} ist, handelt es sich hier lediglich um ein grobes Maß für die Menge an adsorbiertem Farbstoff. Für die praktischen Belange ist jedoch V als Meßgröße ausreichend.

Um den Einfluß der Feuchtigkeit der Gasprobe auf das Fluoreszenzsignal zu beschreiben, wird die Größe ΔF wie folgt definiert:

$$\Delta F = \frac{F_{N_2}^f - F_{N_2}^{tr}}{F_{N_2}^{tr} - F_{O_2}^{tr}} \quad (4.1.4)$$

$F_{N_2}^f$ ($F_{N_2}^{tr}$; $F_{O_2}^f$) ist das Fluoreszenzsignal für feuchten Stickstoff (trockenen Stickstoff, feuchten Sauerstoff). Bei fehlendem Feuchtigkeitseinfluß sollte also ΔF verschwinden. Durch Ändern der Heizspannung wurde die Temperatur der Kammer systematisch verändert. In Abbildung (4.1.11) ist nun die Abhängigkeit von ΔF von der Temperatur der Kammer für unterschiedliche Werte von V aufgetragen. Man kann erkennen, daß bei niedriger Temperatur generell ein Feuchtigkeitseinfluß zu beobachten ist. Bei Temperaturen über etwa 46°C gibt es Bereiche in denen der Feuchtigkeitseinfluß fehlt. Die vorstehend geschilderten Versuche wurden zufällig mit einem günstigen V durchgeführt ($V \approx 100 \times 10^{-4}$). Da es für Fluoreszenzgelb nur gewisse Bereiche gibt in denen kein Feuchtigkeitseinfluß vorliegt, ist dieser Farbstoff allerdings nur bedingt für die klinische Anwendung geeignet.

In Abbildung (4.1.12) wurde das Absolutsignal, also $F_{N_2}^{tr}$ in Abhängigkeit von V dargestellt. Weiterhin ist die Signalausbeute also:

$$(F_{N_2}^{tr} - F_{O_2}^{tr})$$

in Abhängigkeit von V angegeben. Man kann erkennen, daß sowohl das Absolutsignal, als auch die Signalausbeute deutlich von V abhängt. Interessant ist, daß bei $V \approx 50$ ein Maximum der Signalausbeute gefunden wird. Wird mehr Farbstoff an das Trägermaterial adsorbiert, so nimmt die Signalausbeute wieder deutlich ab. Dies läßt sich zum Beispiel durch die Konzentrationslöschung {40} erklären.

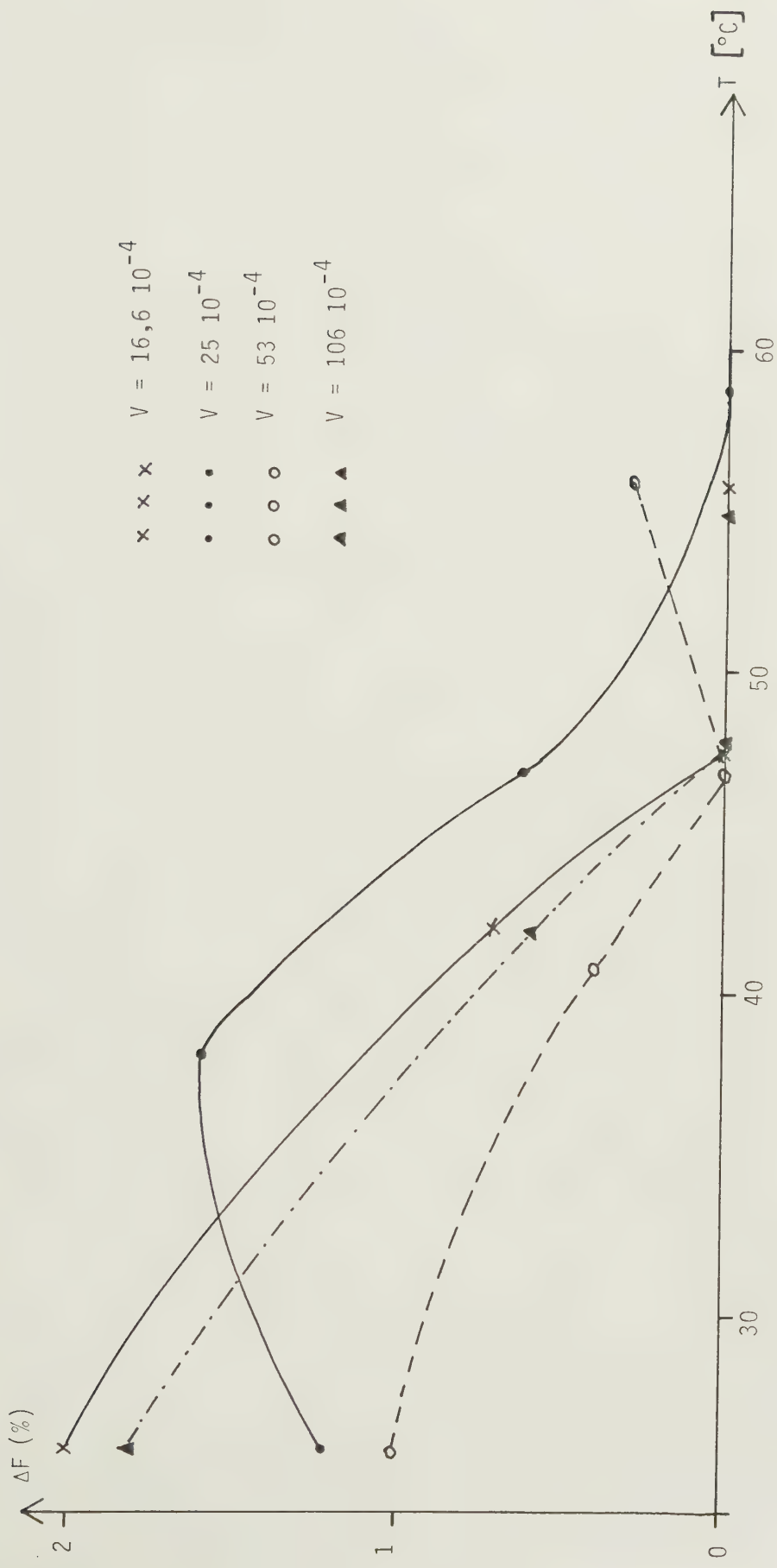


Abbildung 4.1.11 Abhängigkeit von ΔF von der Temperatur der Meßkammer

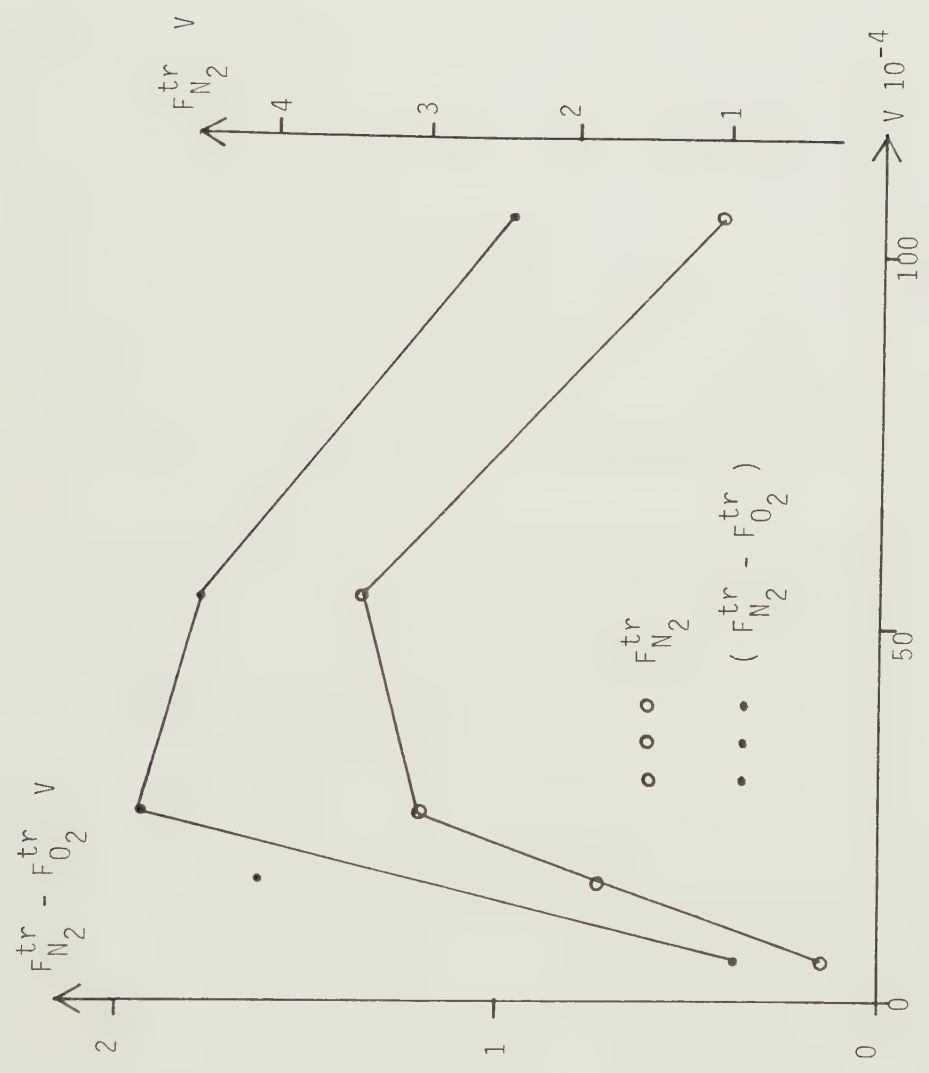


Abbildung 4.1.12 Abhängigkeit des Absolutsignals ($F_{N_2}^{tr} - F_{O_2}^{tr}$) von V (siehe Text)
(das Signal wurde nicht kompensiert)

Neben Porapak Q wurden noch weitere Trägermaterialien eingesetzt. Bei Styragel[®] erfolgte keine adäquate Einfärbung des Trägers. Porapak[®] P zeigte über weite Temperatur- und Konzentrationsbereiche eine Abhängigkeit vom Feuchtigkeitsgehalt. Insgesamt zeigte sich bei diesen systematischen Untersuchungen, daß Porapak[®] Q am besten als Trägermaterial geeignet ist.

Es galt nun zu beweisen, daß der angegebene O₂-Detektor in der Tat schnelle Einstellzeiten aufweist. Hierzu wurde die übliche Meßkammer benutzt. Die Meßkammer wurde zunächst mit N₂ gefüllt und der Einfüllstutzen mit einer Karte verschlossen. Anschließend wurde ein kräftiger O₂-Strom gegen die Karte geblasen und diese möglichst schnell weggezogen. Beim Wegziehen der Karte wurde ein Schalter geschlossen, der zur Auslösung der oszillographischen Registrierung diente. In Abbildung (4.1.13) ist die Oszillographenspur eines derartigen Experimentes angegeben. Man kann deutlich erkennen, daß die 90%-Einstellzeit weniger als 5 ms beträgt. Der Detektor ist somit noch schneller, als das von Döhring et. al. {7} beschriebene System und um Größenordnungen schneller als kommerziell erhältliche O₂-Detektoren.

In diesem Zusammenhang ist ein weiteres Experiment interessant: Es wurde vor die Öffnung eines Photovervielfachers eine Karte gehalten und diese beleuchtet. Anschließend wurde die Karte möglichst schnell weggezogen und dabei wie bereits beschrieben über einen Schalter die Oszillographenregistrierung ausgelöst. Das Signal des PM wurde am Oszillographen registriert. In Abbildung (4.1.14) ist die Oszillographenspur, die bei einem solchen Experiment erhalten wurde angegeben. Interessant ist, daß auch hier die Signaländerung in etwa 5 ms erfolgte. Dies bedeutet umgekehrt, daß für die Bestimmung der Einstellzeit des O₂-Detektors möglicherweise die Geschwindigkeit, mit der die Karte weggezogen wurde, limitierend war. Daher ist der angegebene Wert für die 90%-Einstellzeit als obere Grenze zu werten. Vermutlich ist die Reaktion der O₂-sensitiven Schicht auf Änderungen des pO₂ noch erheblich schneller. Die Übergänge der Fluoreszenz selbst liegen im Nanosekunden-Bereich.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß es möglich ist, einen schnellen O₂-Detektor zu bauen, der für die Messung von Atemgasen gut geeignet ist. Als Nachteil erweist sich jedoch, daß man Fluoreszenzgelb mit relativ kurzwelligem Licht anregen muß. Weiterhin ist es unbefriedigend, daß bei dieser Substanz nur unter gewissen Bedingungen die Feuchtig-

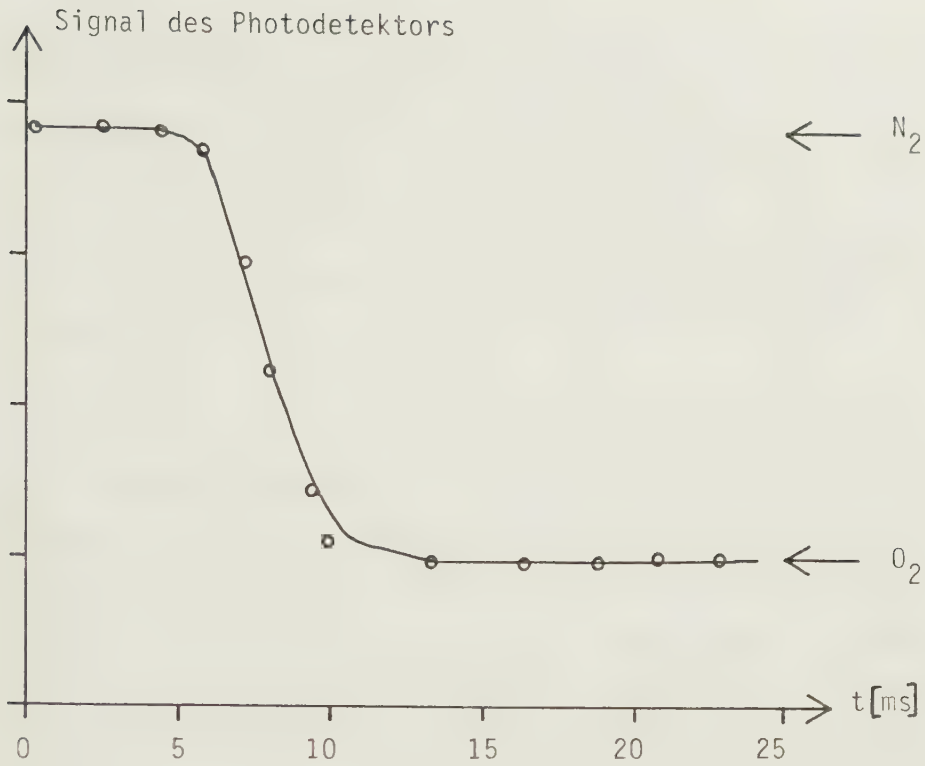


Abbildung 4.1.13 Oszillographenspur bei schnellen pO_2 -Änderungen (vgl. Text)

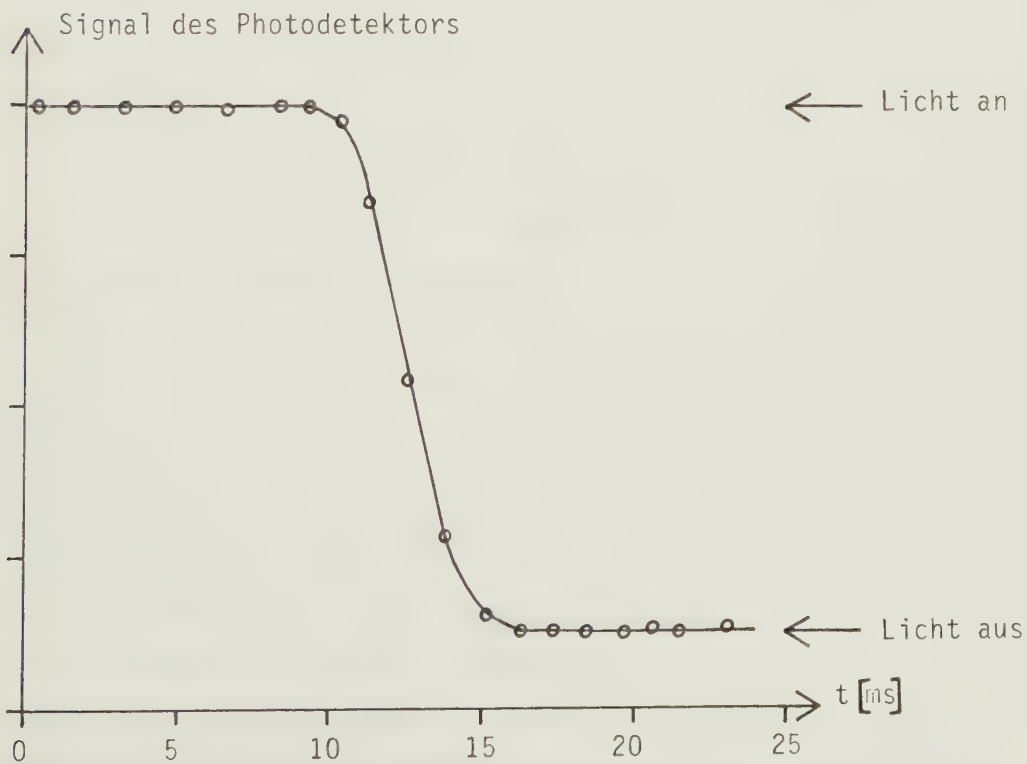


Abbildung 4.1.14 Oszillographenspur bei schnellen Änderungen der Lichtintensität (vgl. Text)

keitsabhängigkeit des Fluoreszenzsignals verschwindet. Hinderlich ist auch, daß die chemische Zusammensetzung der Substanz nicht bekannt ist. Wie bereits erwähnt, muß man jedoch vermuten, daß die Substanz eine oder mehrere hydrophile Gruppen aufweist. Da hierdurch ein Feuchtigkeitseinfluß auf das Signal bedingt sein kann, ist es vorteilhaft, weitere Farbstoffe zu untersuchen, die möglichst keine hydrophilen Gruppen tragen.

4.2 Tetraphenylporphyrin und ähnliche Verbindungen

Als weiterer, rein hydrophober Fluoreszenzfarbstoff wurde Tetraphenylporphyrin (TPP) untersucht. Zur Herstellung der O_2 -empfindlichen Schicht wurden 20 mg TPP in 25 ml Dioxan oder Benzol gelöst. 1 ml dieser Lösung wurde zu 5 ml Dioxan (oder Benzol) gegeben und hierin 0,86 g Porapack® Q (Mesh 50 - 80) suspendiert. TPP wurde von der Fa. Aldrich-Chemie/ 7924 Steinheim geliefert und ohne weitere Reinigung direkt für die Fluoreszenzmessungen eingesetzt. Die Suspension wurde ca. 10 min geschüttelt, anschließend scharf filtriert und bei 120°C getrocknet. Die gefärbten Porapack-Körnchen wurden dann wie üblich als einkörnige Schicht über einer Tesafilmfolie verteilt. Von einer derartigen Schicht ist dann mittels der in Abbildung (4.1.3) skizzierten Apparatur das Anregungsspektrum bestimmt worden. Es wurde keine Korrektur bezüglich der Lampenintensität und der spektralen Eigenschaften der optischen Komponenten durchgeführt. In Abbildung (4.2.1) ist das Anregungsspektrum dargestellt. Interessant ist hierbei, daß neben einer Bande bei etwa 425 nm, zwei weitere Banden bei 517 nm und 548 nm auftreten. Im Gegensatz zu Fluoreszenzgelb sollte hier auch eine Anregung mit sichtbarem Licht möglich sein. Für die technische Anwendung ergeben sich hieraus einige Vorteile: Zum einen kann man für die Anregung Photodioden einsetzen, was eine kompakte Bauweise des Detektors ermöglicht. Zum anderen wird sichtbares Licht durch die herkömmlichen Lichtleiter nicht abgeschwächt. Bei der Sondenausführung (vgl. Abbildung (3.3)) muß man deshalb, wenn man mit UV-Licht anregen will (z.B. 366 nm) den einen Arm des Lichtleiters aus Quarz fertigen lassen. Dies verteuert das Gerät erheblich und die Quarzfasern sind zudem mechanisch anfällig. Regt man dagegen im Sichtbaren an, kann man herkömmliche Lichtleiter verwenden. Der Vorteil ist offensichtlich.

In Abbildung (4.2.2) ist das relative Absorptions- und Fluoreszenzspektrum des Tetraphenylporphyrin dargestellt. Die Spektren wurden mit den in Abschnitt 4.1 angegebenen Methoden gemessen. Wie beim Anregungsspektrum zeigt

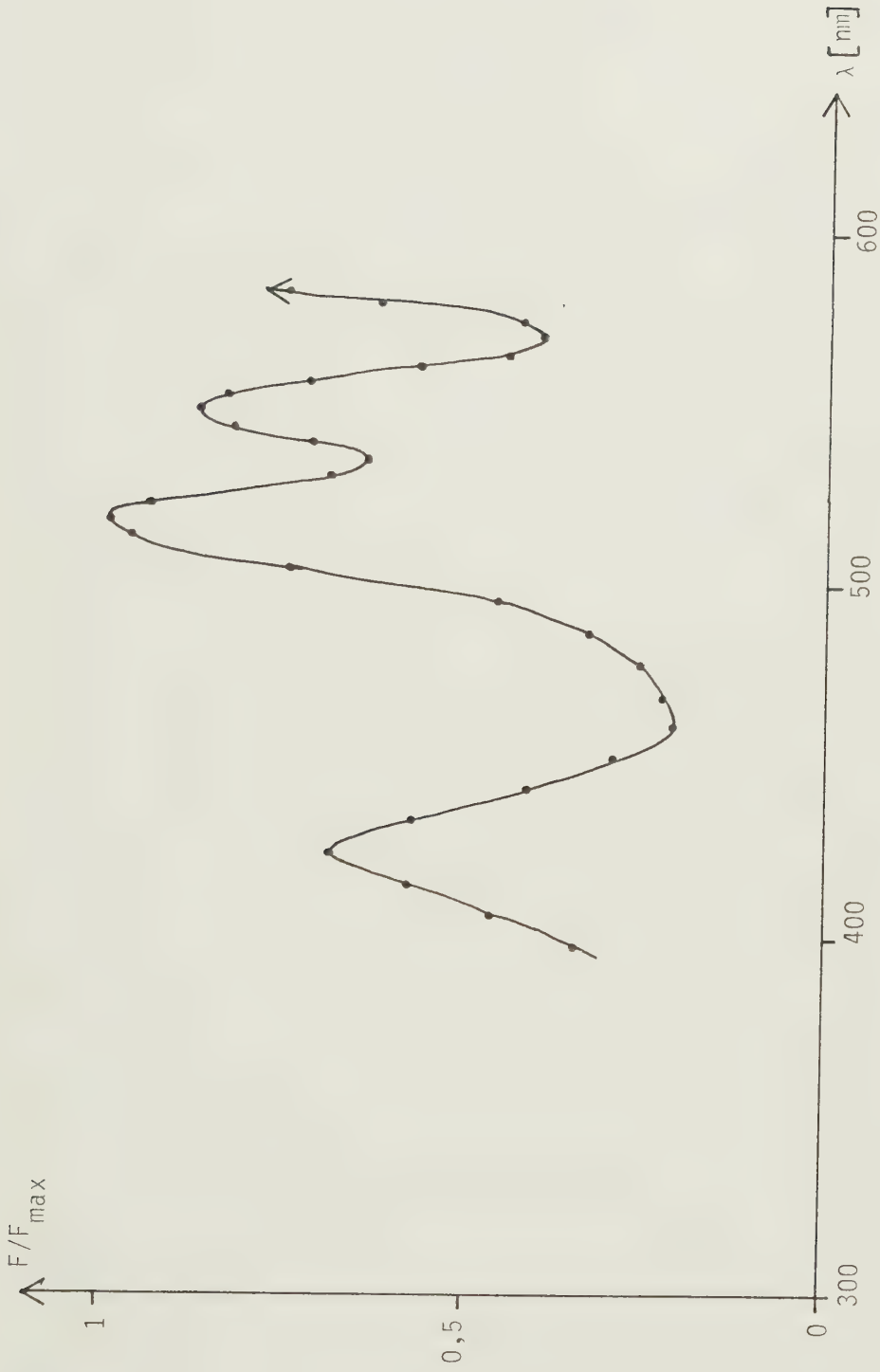


Abbildung 4.2.1 Anregungsspektrum von Tetraphenylporphyrin

Darstellung der Abhängigkeit $F/F_{\max}$ von der Anregungswellenlänge

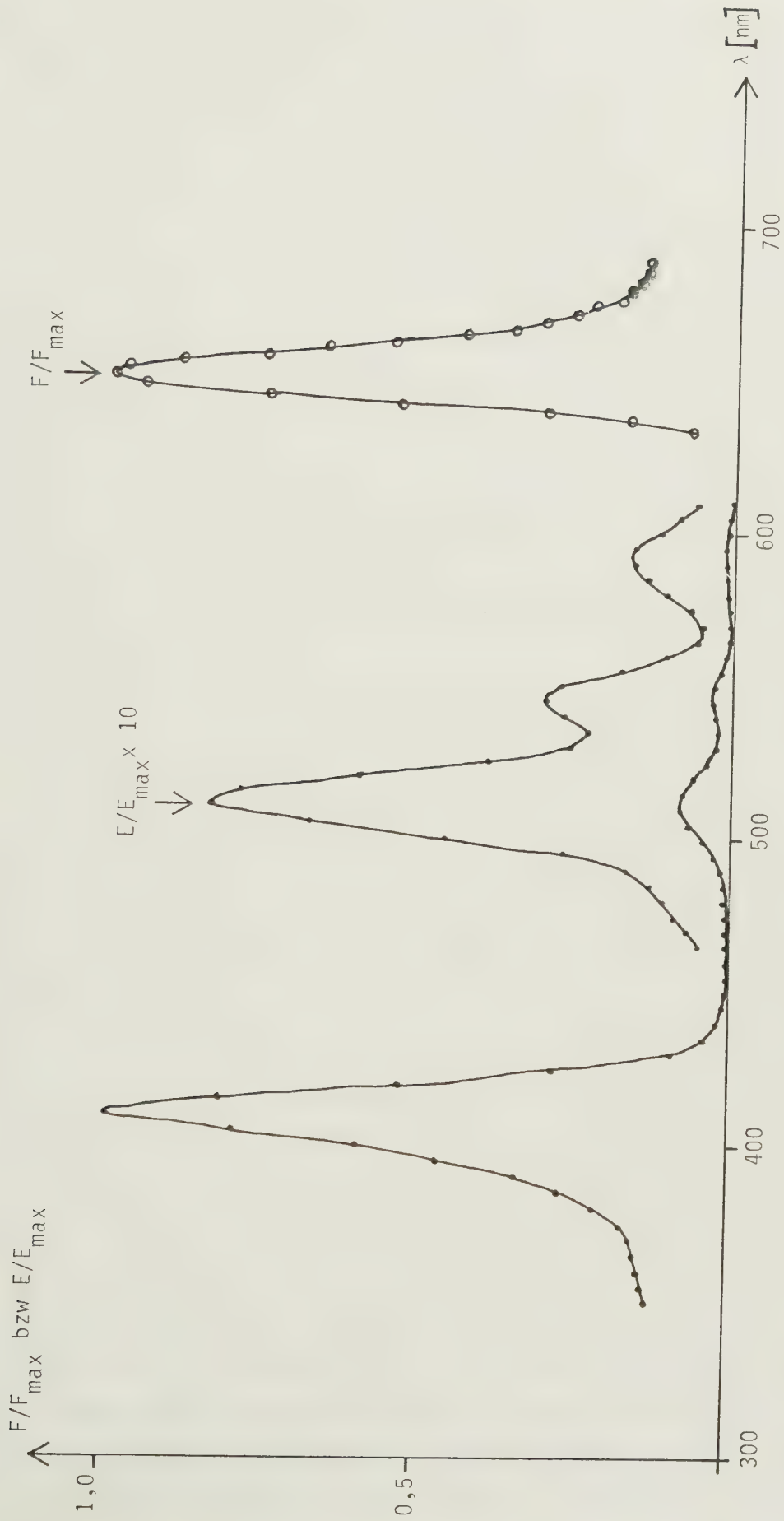


Abbildung 4.2.2 Absorptions- und Emissionsspektrum von TPP (vgl. Text)

auch das Absorptionsspektrum mehrere Banden bei 410 nm, 510 nm, 545 nm und 592 nm. Die Fluoreszenzbande hat bei 650 nm ein Maximum; ein weiteres Maximum liegt bei 720 nm (hier nicht dargestellt). In Abbildung (4.2.4) ist das Fluoreszenzspektrum bei reinem N_2 , O_2 und Luft dargestellt. Die Fluoreszenzlöschung durch O_2 läßt sich klar erkennen, sie beträgt etwa 50% und zeigt praktisch keine spektrale Abhängigkeit.

In Abbildung (4.2.3) ist die Eichkurve einer TPP-Schicht dargestellt. Hierzu wurden, wie vorher mit der Wösthoff-Pumpe trockene und feuchte N_2/O_2 -Gemische erzeugt und durch die Meßkammer geleitet. Die Temperatur der Meßkammer betrug ca. 42°C. Es resultiert eine feuchtigkeitsunabhängige Eichkurve, was bedeutet, daß TPP ebenfalls ein sehr günstiger Farbstoff ist. Bereits bei relativ niedrigen Temperaturen zeigt sich keine Feuchtigkeitsabhängigkeit des Fluoreszenzsignals (vgl. Abbildung (4.1.11)). Allerdings ist das Fluoreszenzsignal des Tetraphenylporphyrin temperaturabhängig. Dies bedeutet, daß bei großen Atemströmen die Temperatur der O_2 -empfindlichen Schicht und somit auch das Fluoreszenzsignal geändert werden.

Es stellt sich nun die Frage, wie man einen derartigen Effekt eliminieren kann. Hier bietet sich einerseits die Möglichkeit mittels eines zweiten Fluoreszenzfarbstoffes die Temperatur der Schicht kontinuierlich zu messen und jeweils aktuell bezüglich der Temperatur die Fluoreszenzintensität zu korrigieren { 41,42 } . Eine andere Möglichkeit wäre das Molekül derart zu verändern, daß die Fluoreszenz des Farbstoffes temperaturunabhängig wird. Hierzu wäre zu überlegen, durch welche Gruppen im Farbstoff-Molekül eine Temperaturabhängigkeit des Fluoreszenzsignals bedingt ist. Es ist möglich, daß die beiden H-Atome im Innern des Porphyrin-Ringes temperaturabhängig abdissoziieren können. Folglich sollten Verbindungen, in denen diese zentralen Protonen durch andere Gruppen ersetzt sind, möglicherweise keine temperaturabhängige Fluoreszenz aufweisen. Eine Alternative wäre, Porphyrinderivate wie z.B. die Pthalozyanine (PC) und Naphthalozyanine zu untersuchen. Im TPP-Molekül können nämlich die Phenylreste unterschiedliche Konformationen im Bezug auf das Ringsystem annehmen. Die Population unterschiedlicher Konformationen kann temperaturabhängig sein, was ebenfalls zu einer Temperaturabhängigkeit der Fluoreszenz führen könnte. Bei Phthalozyaninen und Naphthalozyaninen finden sich keine derartigen Gruppen, so daß möglicherweise diese Verbindungen keine Temperaturabhängigkeit der Fluoreszenz aufweisen.

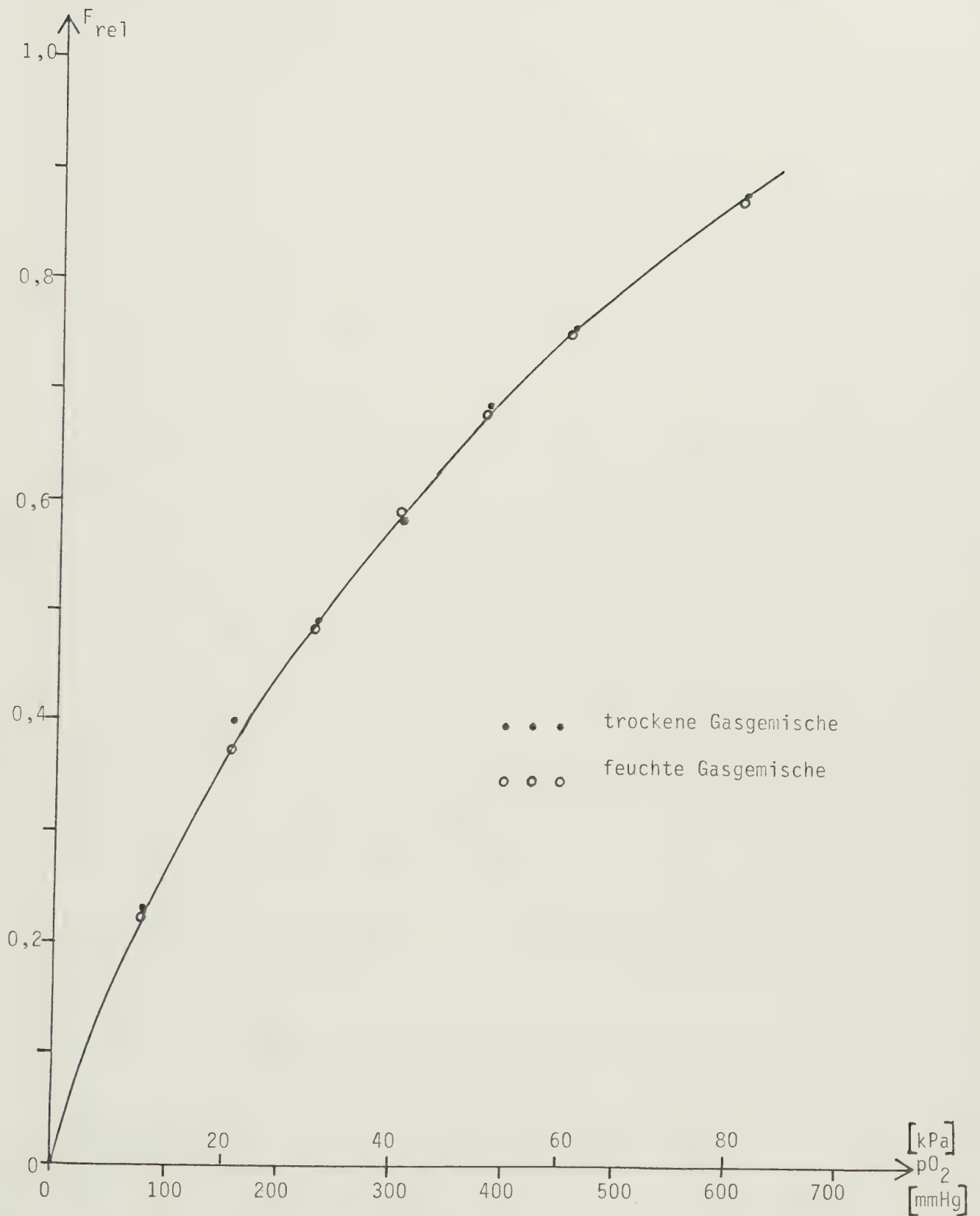
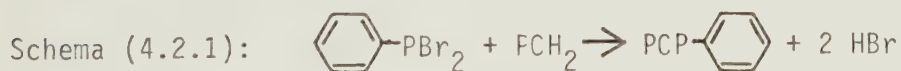


Abbildung 4.2.3 Eichkurve für trockene und feuchte N_2/O_2 -Gasgemische
Schicht: Tetraphenylporphyrin auf Porapak[®] Q

Phthalozyanin wurde von der Fa. Aldrich-Chemie/ 7924 Steinheim geliefert und ohne weitere Reinigung für die Fluoreszenzmessungen eingesetzt. Leider löst sich Phthalozyanin nicht in ausreichender Menge in herkömmlichen Lösungsmitteln, so daß nur eine schwache Anfärbung des Trägermaterials (Porapak Q[®]) gelang und somit auch sehr geringe Fluoreszenzintensitäten erhalten wurden. Daher wurde versucht mit löslichen Phthalozyanin-Derivaten zu arbeiten. Die einfachsten Verbindungen dieser Art sind Metallkomplexe. Da die Metallatome jedoch in diesen Verbindungen weitere Koordinationsstellen besitzen, ist ebenfalls eine Feuchtigkeitsabhängigkeit zu erwarten. Viele dieser Metallkomplexe zeigen außerdem keine Fluoreszenz und scheiden bereits aus diesem Grund aus.

Geeignet scheinen hingegen Porphyrin- und Phthalozyanin-Derivate mit Atomen der IV. und V. Hauptgruppe im zentralen Ring {43,44,45,46,47, 48,49} . So haben z.B. Lautermann et. al. { 49} Phosphor-III-Phthalozyanin beschrieben und berichtet, daß diese Verbindung eine starke Rotfluoreszenz aufweist. Allerdings soll die Substanz relativ instabil sein und sich an der Luft allmählich zersetzen. Da nur zwei Valenzen des Phosphors abgesättigt sind, wird die Verbindung häufig als Ion charakterisiert ((P(III)-PC)⁺). Hierfür spricht auch, daß durch Säuren und Basen reversible spektrale Veränderungen verursacht werden können. Aus diesen Gründen eignet sich das Phosphor(III)-Derivat von PC nicht als Fluoreszenzfarbstoff für einen O₂-Detektor. Es sollte jedoch möglich sein, die freie Valenz des Phosphors durch eine Phenylgruppe abzusättigen. Eine solche Verbindung sollte relativ stabil sein und hydrophobe Eigenschaften aufweisen.

Zur Synthese von Phenyl-Phosphor(III)-Phthalozyanin wurde zunächst Dibrom-phenyl-phosphin nach einer von A.Finch et. al. { 50} angegebenen Methode synthetisiert.



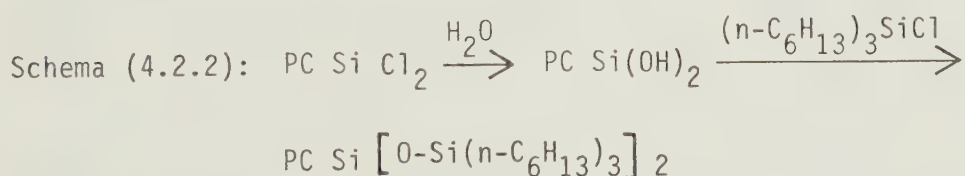
In einem typischen Experiment wurden 17,9 g Dichlorphenylphosphin (Fa. Aldrich-Chemie) und 27,1 g Phosphotribromid gemischt und bei 150°C 2 h erhitzt. Dann wurde fraktioniert destilliert, wobei Dibrom-phenylphosphin im Vakuum bei 126-128°C überging (p_r 11 mm Hg). Die Ausbeute betrug 17 g Dibromphenylphosphin (= 63%). Das Produkt wurde

ohne weitere Reinigung für die folgende Reaktion eingesetzt, die in Schema (4.2.1) erläutert ist.

In einem typischen Experiment wurden 8 mg Phthalozyanin in 10 ml Pyridin gelöst. In einem getrennten Gefäß wurden 0,25 ml Dibromphenylphosphin zu 10 ml Pyridin gegeben, wobei sich die Lösung gelb verfärbte. 1 ml der so präparierten Lösung wurde dann unter Stickstoff zu der Phthalozyanin-Lösung gegeben und anschließend für 1 h unter Rückfluß gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde dann in 100 ml Wasser gegeben. Es entstand eine grün gefärbte Lösung mit einem schmierigen grünen Niederschlag. Das Reaktionsprodukt wurde mit Benzol ausgeschüttelt, wobei sich die organische Phase tief grün färbte. Beim Einengen der Lösung zersetzte sich jedoch das Reaktionsprodukt. Deshalb wurde in einem zweiten Experiment zur getrockneten, benzolischen Lösung Porapak Q gegeben, die entstandene Suspension geschüttelt und abfiltriert. Die Porapak -Körnchen zeigten eine deutliche Rotfluoreszenz und bei der qualitativen Prüfung ergab sich auch eine O₂-Empfindlichkeit. Beim Trocknen entzündete sich jedoch das Produkt spontan an der Luft. Obwohl es also nicht gelungen ist, Phenyl-Phosphor-(III)Phthalozyanin zu isolieren, gibt es indirekte Hinweise dafür, daß das Produkt bei der angegebenen Reaktion entstanden ist. Während sich nämlich PC nicht in Benzol löst, war das Reaktionsprodukt gut löslich. Da jedoch das Produkt offensichtlich sehr instabil ist und sich daher nicht als Fluoreszenzfarbstoff eignet, wurde dieses Konzept nicht weiter verfolgt.

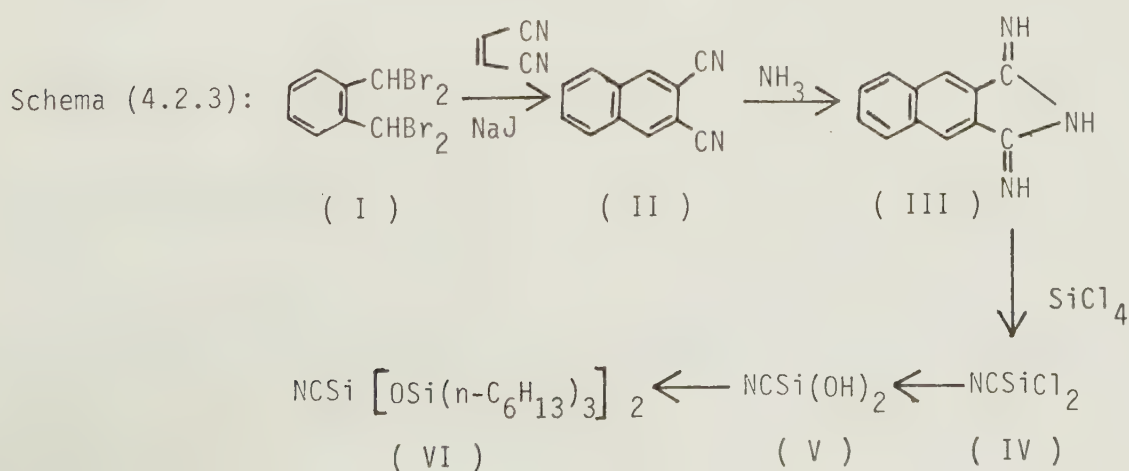
Wesentlich stabiler und somit für die Anwendung interessanter scheinen PC-Derivate mit einem Si-Atom im zentralen Ring zu sein. Über die Stabilität dieser Verbindungeklasse wurde vor einiger Zeit von Wheeler et. al. berichtet {48}. Die publizierten Spektren belegen, daß die PC-Derivate mit sichtbarem Licht angeregt werden können und das Maximum der Fluoreszenzbande bei etwa 700 nm liegt. Daher wurde der Versuch unternommen, die folgende Verbindung zu synthetisieren:

PC Si $\left[\text{O-Si}(\text{n-C}_6\text{H}_{13})_3 \right]_2$. Der Syntheseweg ist in Schema (4.2.2) angegeben.



Als Ausgangsprodukt diente PCSiCl_2 , das von der Fa. Ventron/Zeppelinstr.7, D-7500 Karlsruhe 1 geliefert wurde. Das Dichlorophthalocyanato Silizium wurde nach einer Vorschrift von Lowery et. al. { 45 } hydrolysiert. Das Reaktionsprodukt (PCSi(OH)_2) wurde getrocknet und ohne weitere Reinigungsschritte für die nachfolgende Reaktion eingesetzt. In einem typischen Experiment wurden 0,1 g PCSi(OH)_2 und 0,7 ml tri-n-Hexyl-chlorsilan in 10 ml Pyridin gelöst und für 5 h unter Rückfluß gekocht. Die Lösung wurde dann in 100 ml Wasser gegeben und das Reaktionsprodukt mit Toluol ausgeschüttelt. Anschließend wurde Toluol abdestilliert und eine blau gefärbte Verbindung erhalten. Die Ausbeute betrug 70 mg (=35%). 70 mg des Reaktionsproduktes wurden dann in 5 ml Chloroform gelöst und von dieser Lösung 100 μl mit 1 ml Chloroform verdünnt. In dieses Gemisch wurden dann 0,2 g Porapak gegeben und wie üblich eine O_2 -empfindliche Schicht präpariert. In Abbildung (4.2.5) ist das Fluoreszenzspektrum von einer derartigen Schicht dargestellt. Man kann erkennen, daß keine ausreichende O_2 -Empfindlichkeit besteht. Der Farbstoff ist also nicht für die Verwendung in einem O_2 -Detektor geeignet. Es bleibt jedoch zu überprüfen, ob eventuell die Messung niedrigerer Sauerstoff-Konzentrationen mit dieser Verbindung möglich ist.

Wheeler et. al. {48} haben weiterhin über die Synthese von Naphthal-
cyanin-Derivaten berichtet. Diese Verbindungen absorbieren noch Licht
von ca. 780 nm und das Fluoreszenzlicht liegt in einem Bereich von
über 800 nm. Für die Anwendung wäre diese Verbindung sehr interessant,
da langwellige Anregung und Detektion mit herkömmlichen Photodioden
zu bewerkstelligen ist. Es war somit die Konstruktion eines sehr kom-
pakten und relativ billigen O_2 -Detektors möglich. Daher wurde in An-
lehnung an das von Wheeler et. al. { 48 } angegebenen Verfahren
 $\text{NC Si [O-Si(x-C}_6\text{H}_{13})_3]_2$ synthetisiert. In Schema (4.2.3) ist das
Syntheseverfahren kurz skizziert.



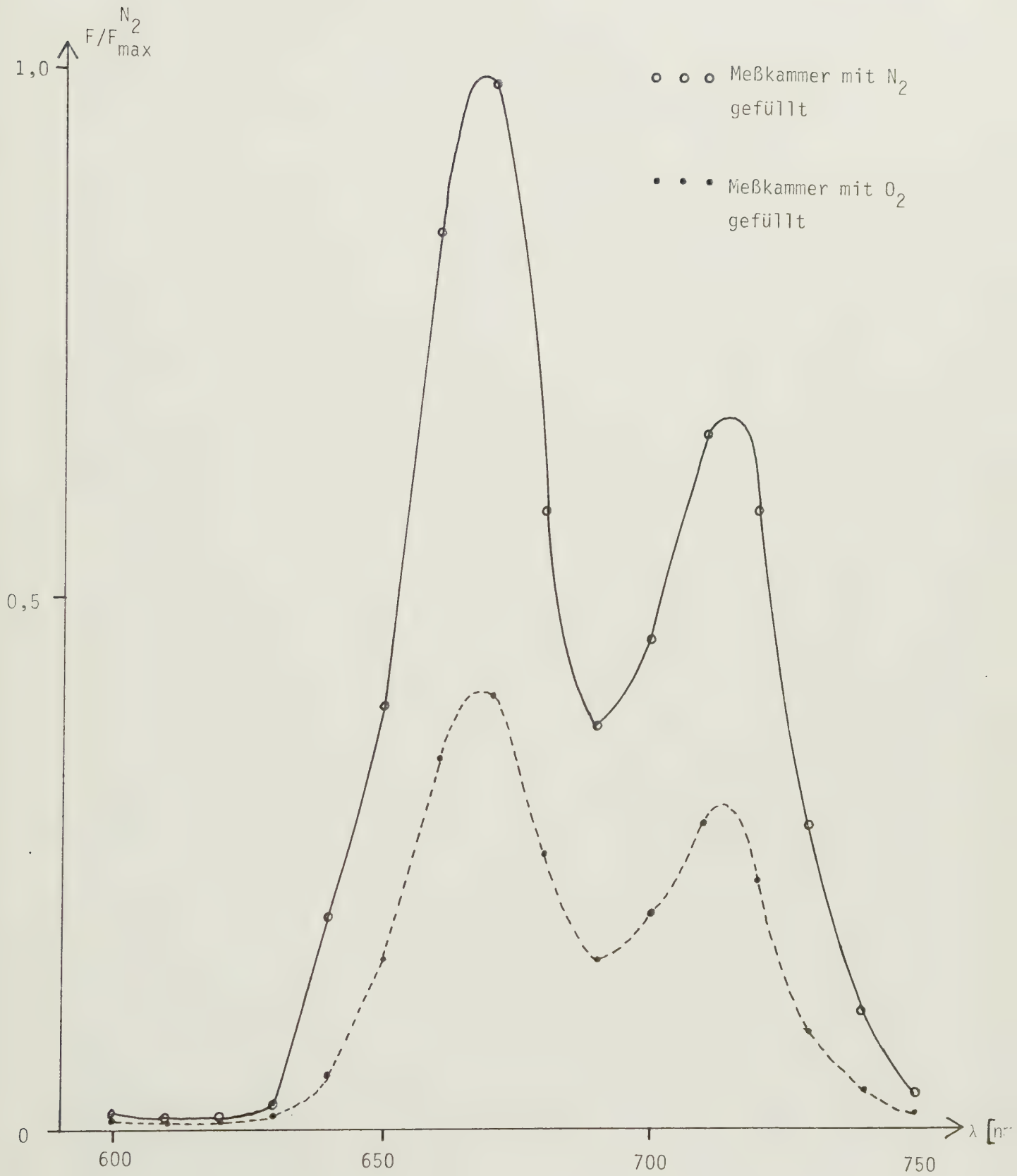


Abbildung 4.2.4 Fluoreszenzspektrum von TPP auf Porapak® Q aufgezogen

Das Dizyanonaphthalin(II) wurde nach einer Vorschrift von Kovsky et al. synthetisiert. Hierzu wurden 40 g α,α',α' -Tetrabromo-o-Xylol, 12,8 g Fumaronitril, 44 g KJ und 400 ml Dimethylformamid 5,5 h bei 75°C erhitzt. Die Lösung wurde dann in 500 ml Eis-Wasser-Gemisch gegeben und mit Natriumbisulfit versetzt bis sich die rotbraune Lösung gelb verfärbt. Das Reaktionsprodukt wurde abfiltriert, getrocknet und direkt für die nächste Stufe eingesetzt. Eine Probe ließ sich durch Umkristallisieren aus Äthanol reinigen. Die Ausbeute betrug 15,4 g (=92%). Im nächsten Reaktionsschritt wurde in eine Lösung von 10,2 g 2,3-Naphthalindicarbonitril(II) und 1,5 g Natriummethylat in 90 ml Methanol für 1/2 h NH_3 eingeleitet. Anschließend wurde 3 h unter Rückfluß gekocht. Das Reaktionsprodukt, nämlich 1,3-Diiminobenzindolin(III), fällt beim Abkühlen aus und kann abfiltriert werden. Dieses Produkt wurde ohne weitere Reinigungsschritte für die folgende Reaktionsstufe eingesetzt. Eine Umkristallisation aus Äthanol ist jedoch möglich. Die Ausbeute betrug 3,5 g (=31%). Anschließend wurde eine Mischung aus 3 g 1,3-Diiminobenzindolin(III), 2,7 ml SiCl_4 , 20 ml Tetralin und 10 ml Tributylamin für 2,5 h unter Rückfluß erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde abgekühlt und mit Methanol versetzt und abfiltriert. Ohne weitere Aufarbeitung wurde das Rohprodukt dann in 100 ml konzentrierte H_2SO_4 gegeben, 2 h gerührt und dann in 500 ml Eis geschüttelt. Es wurde ein grün gefärbtes Material erhalten, das abfiltriert und unter Rückfluß mit 150 ml konzentrierter NH_4OH -Lsg. gekocht wurde. Die Ausbeute betrug 1,88 g Rohprodukt(IV), das mit Sicherheit noch erheblich verunreinigt war. 0,13 g des Rohprodukts wurden dann in 20 ml Picolin gegeben und mit 2 ml Tri-n-Butylamin und 3 ml Tri-n-Hexylchlorsilan versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde etwa 1,5 h unter Rückfluß gekocht und nach Filtration in ein Äthanol/Wasser-Gemisch (1:1) gegeben. Das Produkt wurde in Chloroform ausgeschüttelt und das Chloroform abdestilliert. 10 mg des Reaktionsproduktes(VI) wurden darauf in 10 ml Chloroform gelöst und wie beschrieben auf Porapak Q aufgezogen (1 ml Lsg.+ 0,2 g Porapak Q). Das mit dem OMA-System aufgenommene Fluoreszenzspektrum ist in Abbildung (4.2.6) dargestellt. Wie erwartet erhält man eine Rotfluoreszenz, die O_2 -Empfindlichkeit ist jedoch wiederum nicht zufriedenstellend. Da die besten Resultate mit Tetraphenylporphyrin erhalten wurden, lag es nahe, ein Silizium-Derivat dieses Farbstoffes zu synthetisieren und dessen Eigenschaften zu untersuchen. Üblicherweise werden Silizium-Derivate von Porphyrinen aus dem jeweiligen Porphyrin und SiCl_4 im

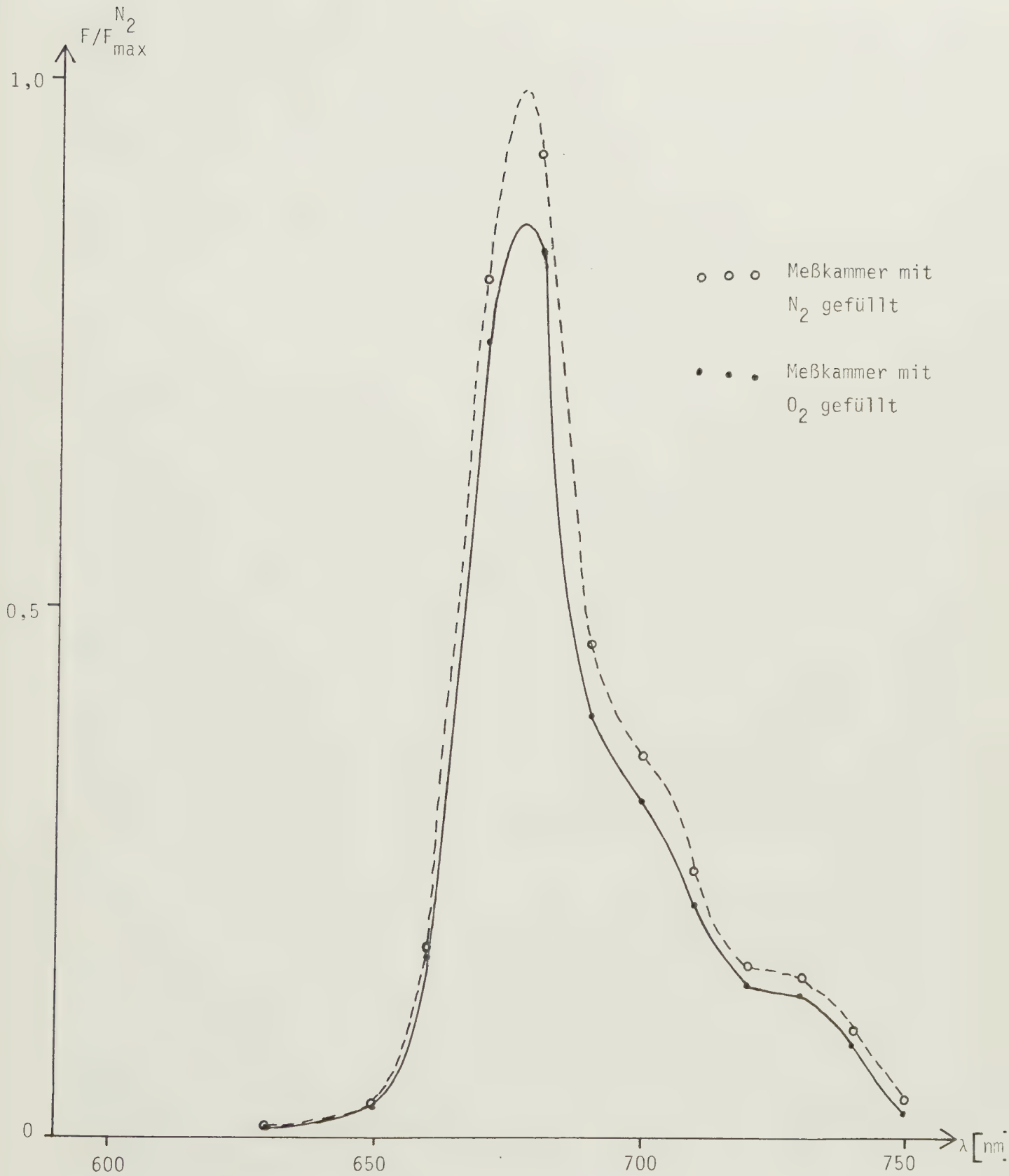
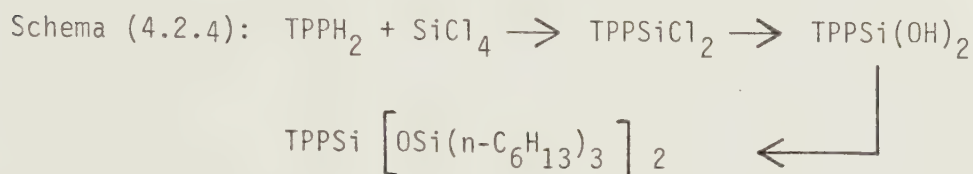


Abbildung 4.2.5 Fluoreszenzspektrum von $PC\ Si[OSi(n-C_6H_{13})_3]_2$ auf Porapak® Q aufgezogen, man erkennt, daß die Schicht lediglich eine mäßige O_2 -Empfindlichkeit aufweist.

Bombenrohr bei etwa 190°C und Pyridin als Lösungsmittel hergestellt {52}. Die ersten Versuche, diese Synthese mit Tetraphenylporphyrin nachzuvollziehen, schlugen fehl. Aus dem Reaktionsgemisch konnten lediglich Zersetzungsprodukte des Farbstoffes nachgewiesen werden. Eine Synthese gemäß Schema (4.2.4) sollte jedoch möglich sein.



Daher wurde in einem weiteren Ansatz 0,3 g TPP in 20 ml Tributylamin gelöst und 3 ml SiCl_4 zugegeben. Die Lösung wurde dann 3 h unter Rückfluß gekocht und anschließend in 500 ml Eis gegeben. Die Mischung wurde mit HCl neutralisiert und das Reaktionsprodukt mit Chloroform ausgeschüttelt. Zur Hydrolyse wurde die erhaltene Substanz mit konzentrierter NH_4OH im Rückfluß gekocht. Das Reaktionsprodukt ließ sich wieder in Chloroform ausschütteln. Nach Abdestillieren des Chloroforms blieb ein blauviolett gefärbter Feststoff zurück, dessen IR-Spektrum Abbildung (4.2.7) zeigt. Zum Vergleich ist in Abbildung (4.2.8) das IR-Spektrum von TPP dargestellt. Die Unterschiede sind evident. Insbesondere ist bei 2960 cm^{-1} eine neue Bande zu erkennen, die man der Si-OH-Gruppe zuordnen kann {53}. Physikalisch-chemisch zeigen sich auch deutliche Unterschiede zwischen TPP und dem Reaktionsprodukt. Insgesamt zeigen also die erhobenen Befunde, daß bei obiger Reaktion tatsächlich TPP-Si(OH)_2 entstanden ist.

In einem weiteren Reaktionsschritt wurde 0,13 g TPPSi(OH)_2 mit 3 ml Tri-n-Hexylchlorsilan, 2 ml Tri-n-Butylamin und 20 ml 3-Picolin zusammengegeben und 1,5 h unter Rückfluß gekocht. Danach wurde die Lösung in 500 ml Eis-Wasser-Gemisch gegeben und mit HCl neutralisiert. Der Farbstoff wurde dann mit Chloroform ausgeschüttelt und nach Abdestillieren des Chloroforms als blauvioletter Festkörper isoliert. In Abbildung (4.2.9) ist das IR-Spektrum des Reaktionsproduktes angegeben. Im Gegensatz zu TPP-Si(OH)_2 läßt sich jetzt die SiOH-Bande IR-spektroskopisch nicht nachweisen. Die bei 1450 cm^{-1} und 1470 cm^{-1} neu aufgetretenen Banden lassen sich der CH-Deformationsschwingung zuordnen. Insgesamt sprechen die Befunde dafür, daß $\text{TPPSi} \left[\text{OSi}(\text{n-C}_6\text{H}_{13})_3 \right]_2$ gebildet wurde. Es wurde nun 10 mg $\text{TPPSi} \left[\text{OSi}(\text{n-C}_6\text{H}_{13})_3 \right]_2$ in 10 ml

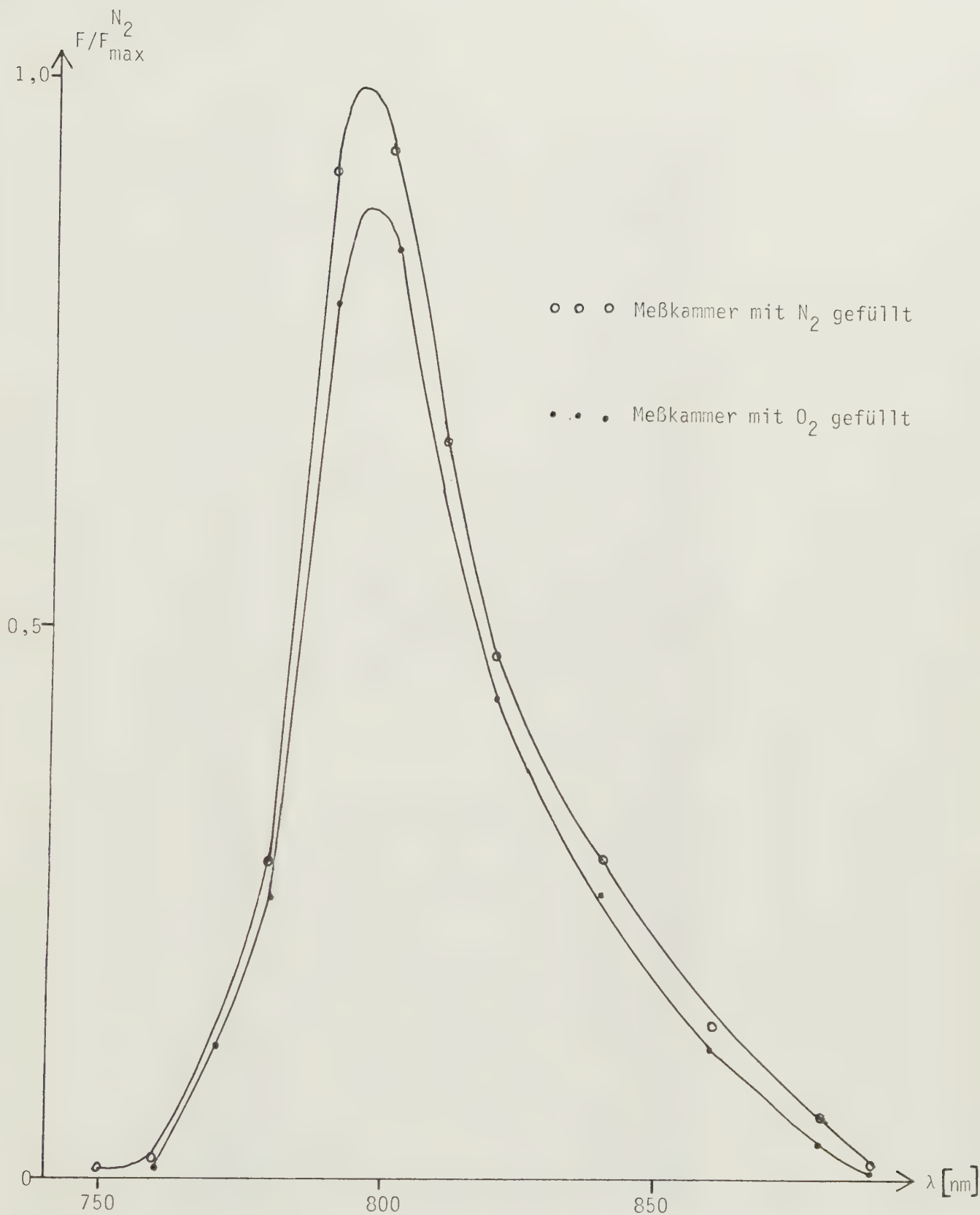


Abbildung 4.2.6 Fluoreszenzspektrum von $NC\ Si[OSi(n-C_6H_{13})_3]_2$ auf Porapak[®] Q aufgezogen. Man erkennt, daß die Schicht lediglich eine mäßige O_2 -Empfindlichkeit aufweist.

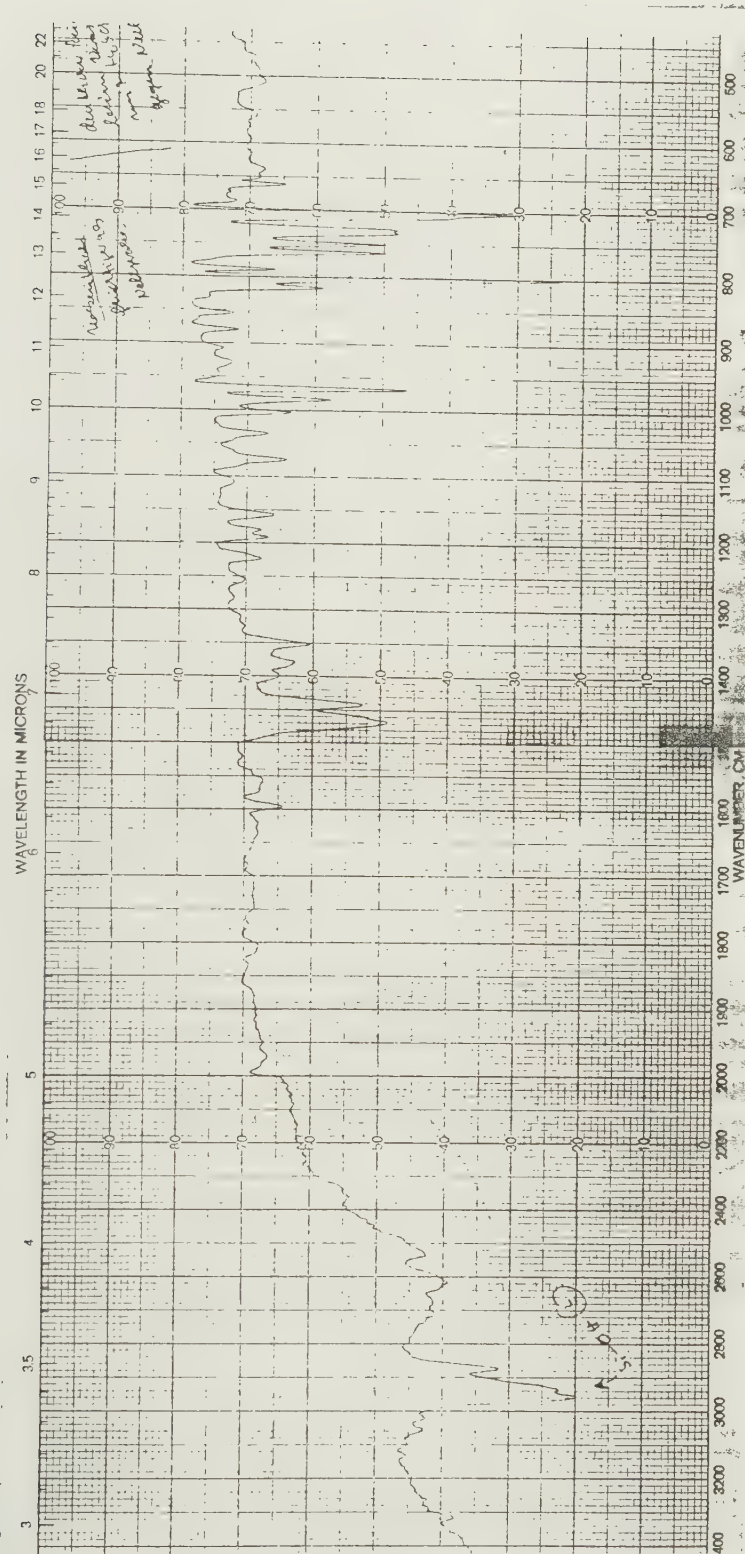


Abbildung 4.2.7 IR-Spektrum von TPP Si(OH)₂

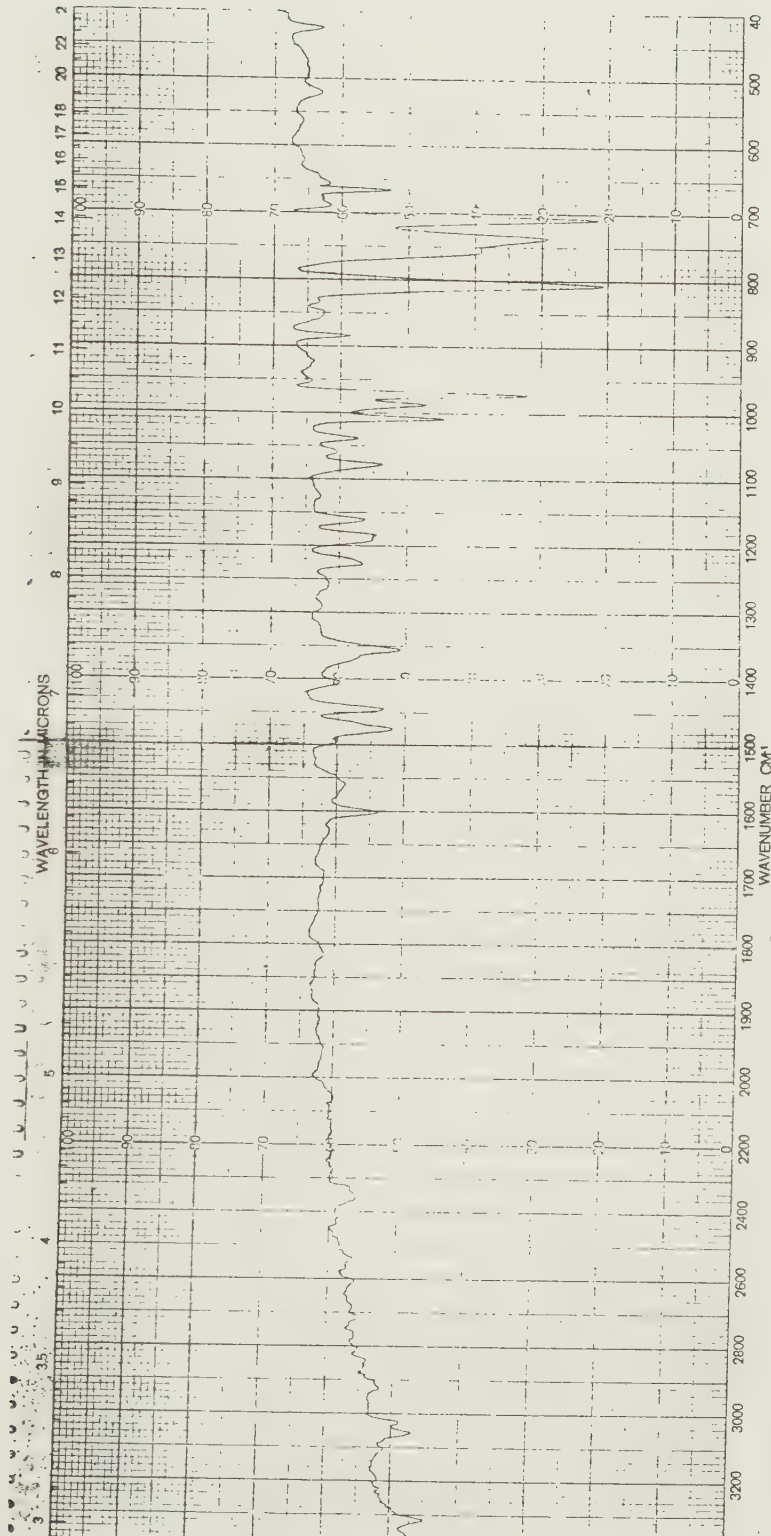


Abbildung 4.2.8 IR-Spektrum von TPP

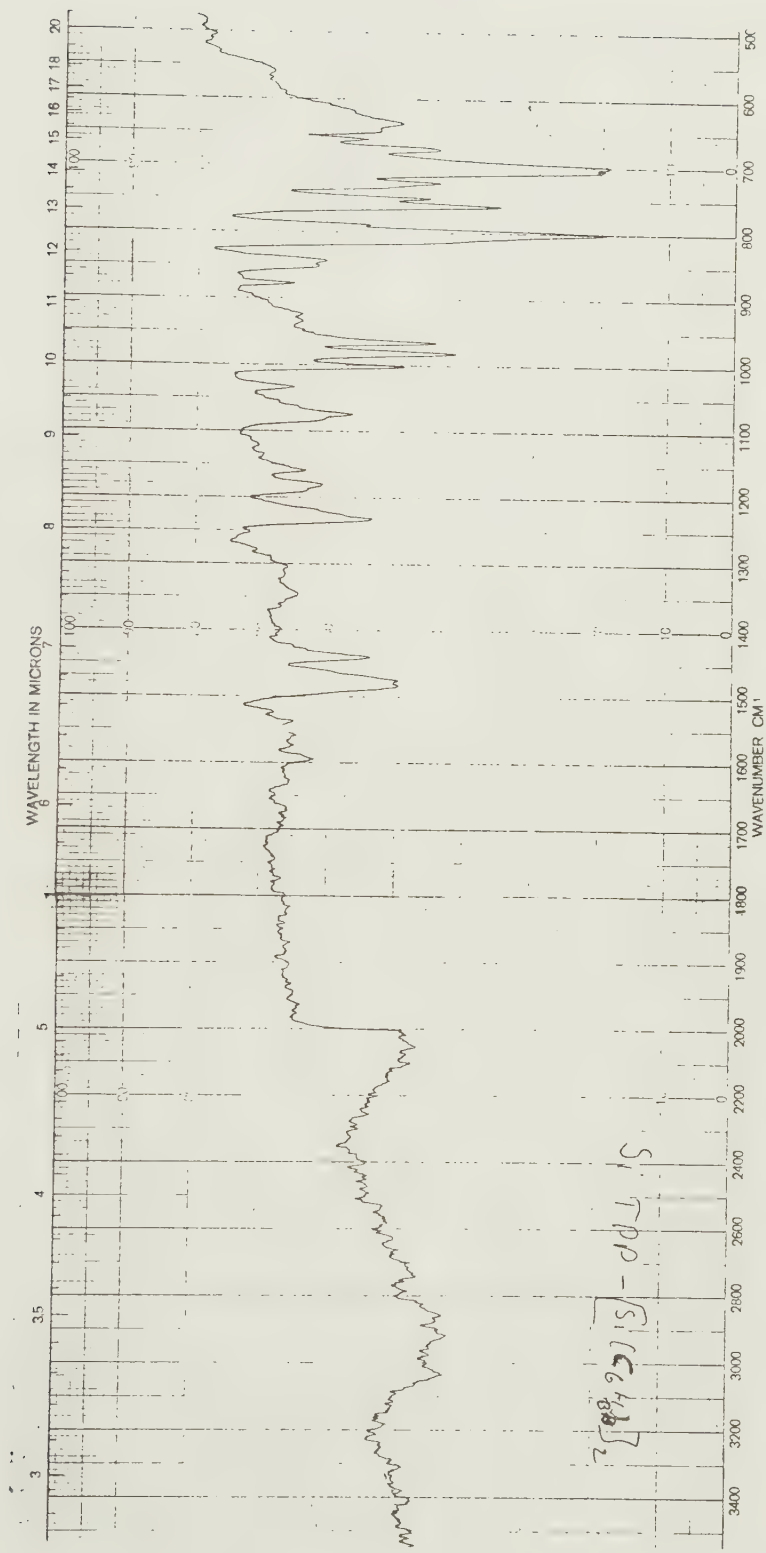


Abbildung 4.2.9 IR-Spektrum von TPP Si $\left[\text{OSi}(\text{n-C}_6\text{H}_{13})_3\right]_2$

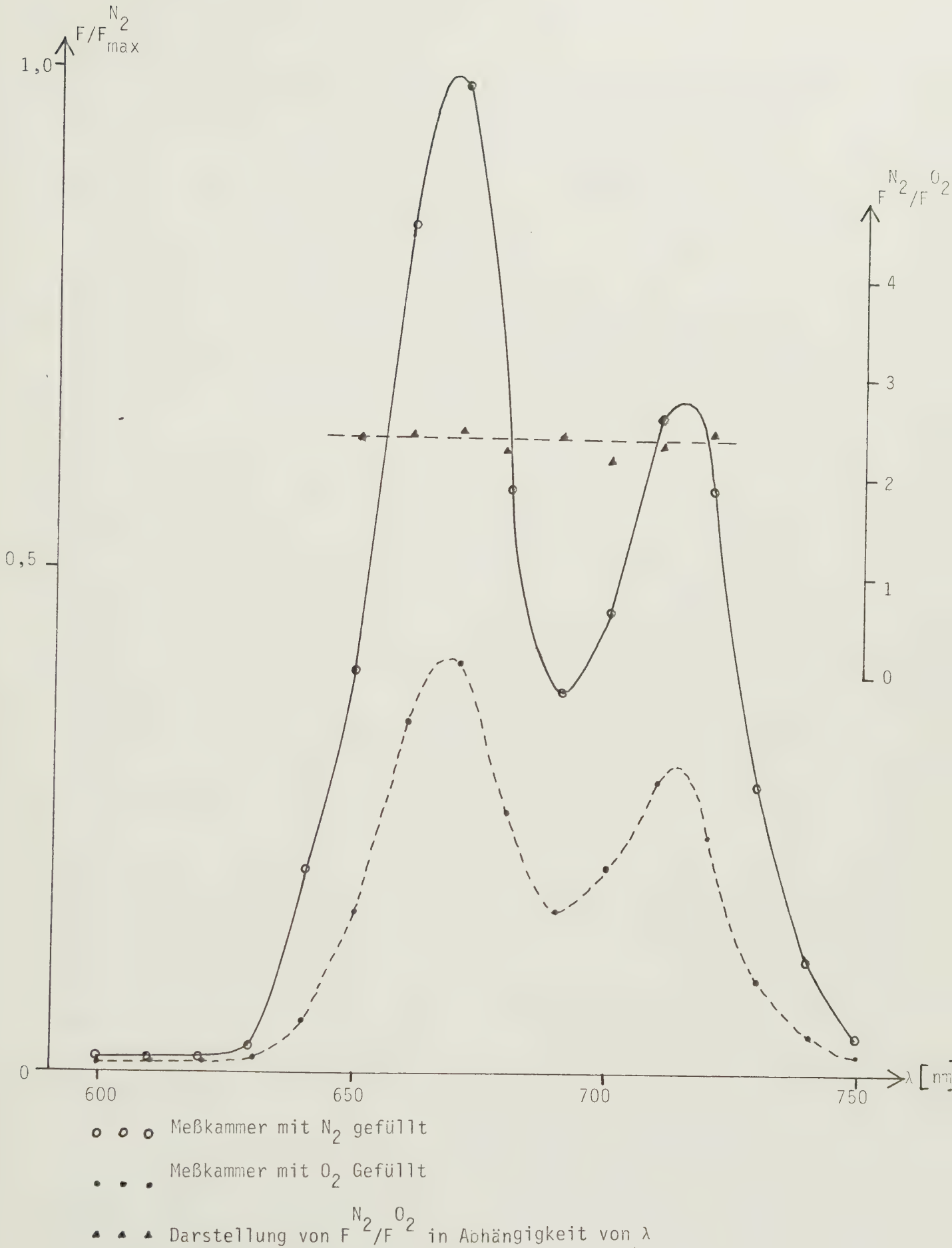


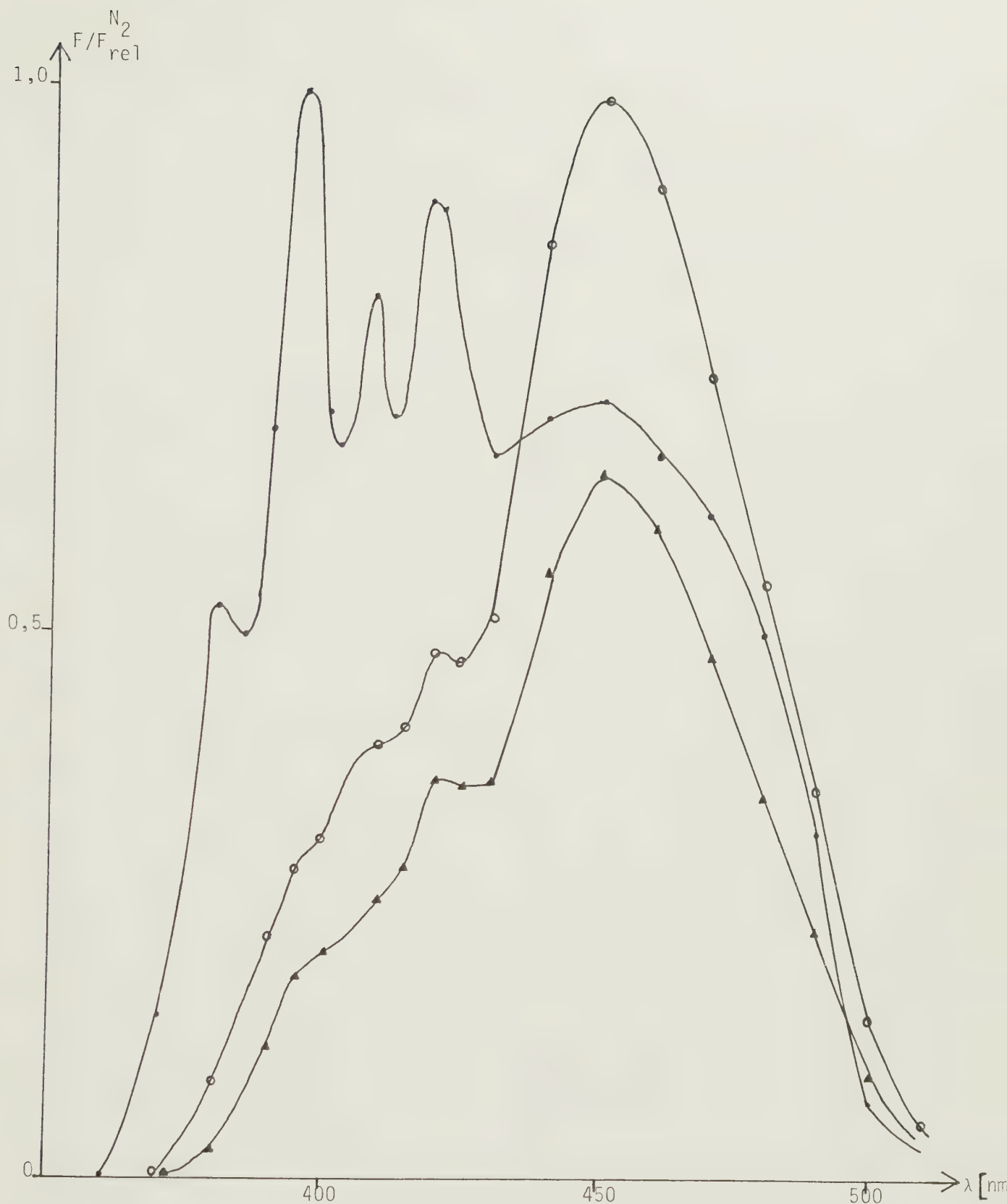
Abbildung 4.2.10 Fluoreszenzspektrum von TPP Si[OSi(n-C₆H₁₃)₃]₂
auf Porapak® Q aufgezogen

Chloroform gelöst und wie bereits vorher beschrieben, eine O_2 -sensitive Schicht hergestellt (1 ml Lsg. + 0,2 g Porapak[®] Q). In Abbildung (4.2.10) ist das Fluoreszenzspektrum einer derartigen Schicht dargestellt. Das Spektrum unterscheidet sich nur unwesentlich vom TPP-Spektrum. Interessant ist, daß das Verhältnis F_{N_2}/F_{O_2} über das gesamte Spektrum konstant ist. Die O_2 -Empfindlichkeit ist zufriedenstellend. Erste Untersuchungen zeigen, daß dieser Farbstoff stabiler als TPP ist und ebenfalls keine Querempfindlichkeit zum Feuchtigkeitsgehalt der Probe aufweist. Es bleibt weiteren Experimenten vorbehalten, zu klären, ob TPP $Si[OSi(n-C_6H_{13})_3]_2$ sich besser für den Einsatz als Fluoreszenzfarbstoff für einen O_2 -Detektor eignet.

4.3 Pyren und andere aromatische Kohlenwasserstoffe

Ein weiterer Farbstoff, der häufig für die Herstellung O_2 -sensitiver Schichten eingesetzt wird, ist Pyren {10,11,12,54,55}. In Abbildung (4.3.1) ist das Emissionsspektrum zweier O_2 -sensitiver Schichten dargestellt, wobei die Konzentration von Pyren variiert wurde. Es wird deutlich, daß auch hier eine ausreichende O_2 -Empfindlichkeit gegeben ist. Die strukturlose langwellige Bande kann der Excimer-Fluoreszenz von Pyren zugeordnet werden {56,57,58}. Hierunter versteht man, daß sich im angeregten Zustand ein intermolekularer Komplex zwischen dem angeregten Molekül und einem Nachbarmolekül bildet. Das Excimer hat dann ein völlig anderes Fluoreszenzspektrum als das Monomer. Das Monomer zeigt ein deutlich strukturiertes Fluoreszenzspektrum.

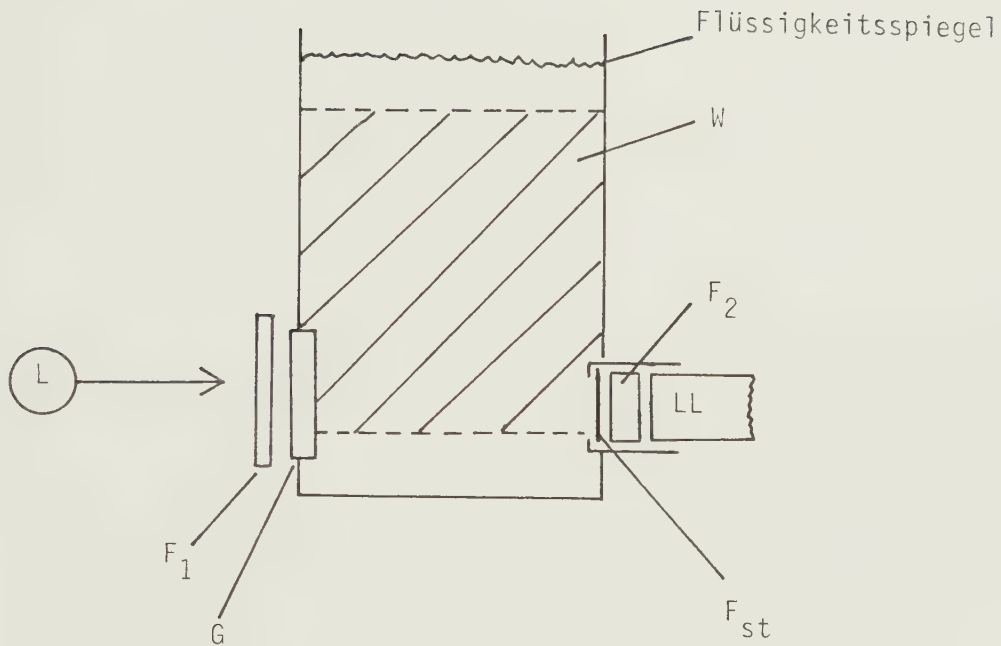
Es wurde nun untersucht, ob die O_2 -sensitiven Pyren-Schichten unabhängig vom H_2O -Gehalt der Gasprobe sind. Insbesondere interessierte die Frage, ob die Pyrenschichten direkt in Wasser eintauchen können, ohne daß sich das Signal verändert. Hierzu wurde die in Abbildung (4.3.2) skizzierte Meßkammer benutzt. Zunächst wurde in die Meßkammer Gase mit unterschiedlichem O_2 -Gehalt geblasen und das Fluoreszenzsignal gemessen. Dann wurde die Meßkammer mit H_2O gefüllt und wieder mit Gasgemischen mit unterschiedlichem pO_2 äquilibriert. In Abbildung (4.3.3) ist die Eichkurve, die bei einem solchen Versuch erhalten wurde, angegeben. Während sich die Absolutsignale, also F_{N_2} etc. aufgrund unterschiedlicher Reflexionsverhältnisse bei flüssigen und gasförmigen Phasen vor der O_2 -sensitiven Schicht beträchtlich geändert haben, bleibt die Eichkurve überraschenderweise konstant. Das Medium vor der O_2 -sensitiven Schicht beeinflußt also in diesem Falle nicht das Fluoreszenz-Signal.



- • • Pyren wurde in verdünnter Lösung ($V=0,3 \cdot 10^{-3}$, vgl. Gl. 4.1.3) auf Porapak aufgezogen, Kammer mit N_2 gefüllt
- ◦ ◦ Pyren wurde in konzentrierter Lösung ($V=25 \cdot 10^{-3}$) auf Porapak aufgezogen, Kammer mit N_2 gefüllt
- ▲ ▲ ▲ Pyren wurde in konzentrierter Lösung auf Porapak aufgezogen, Kammer mit O_2 gefüllt

Abbildung 4.3.1 relatives Emissionsspektrum von Pyren auf Porapak® Q aufgezogen

Vertikalschnitt



Horizontalschnitt

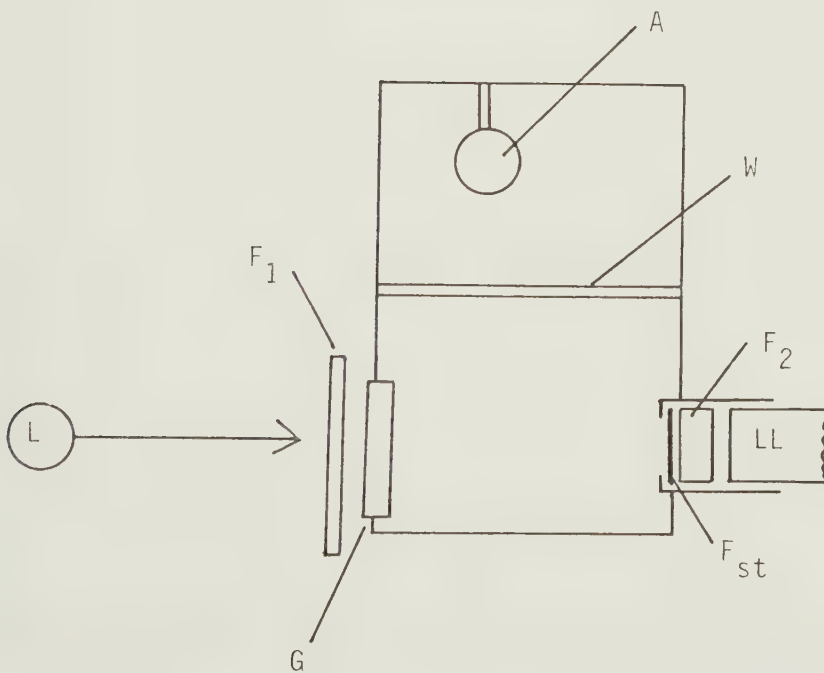


Abbildung 4.3.2 Skizze der Meßkammer zur Bestimmung von Eichkurven in Flüssigkeiten

L:Lichtquelle; F₁:Interferenzfilter; G:Platte aus Quarz; F_{st}:O₂-empfindliche Schicht; F₂:Langpaßkante; LL:Lichtleiter; A:Ausströmerstein(zum Begasen der der Flüssigkeit in der Kammer; W:Trennwand(verhindert, daß Gasblasen in den Strahlengang gelangen)

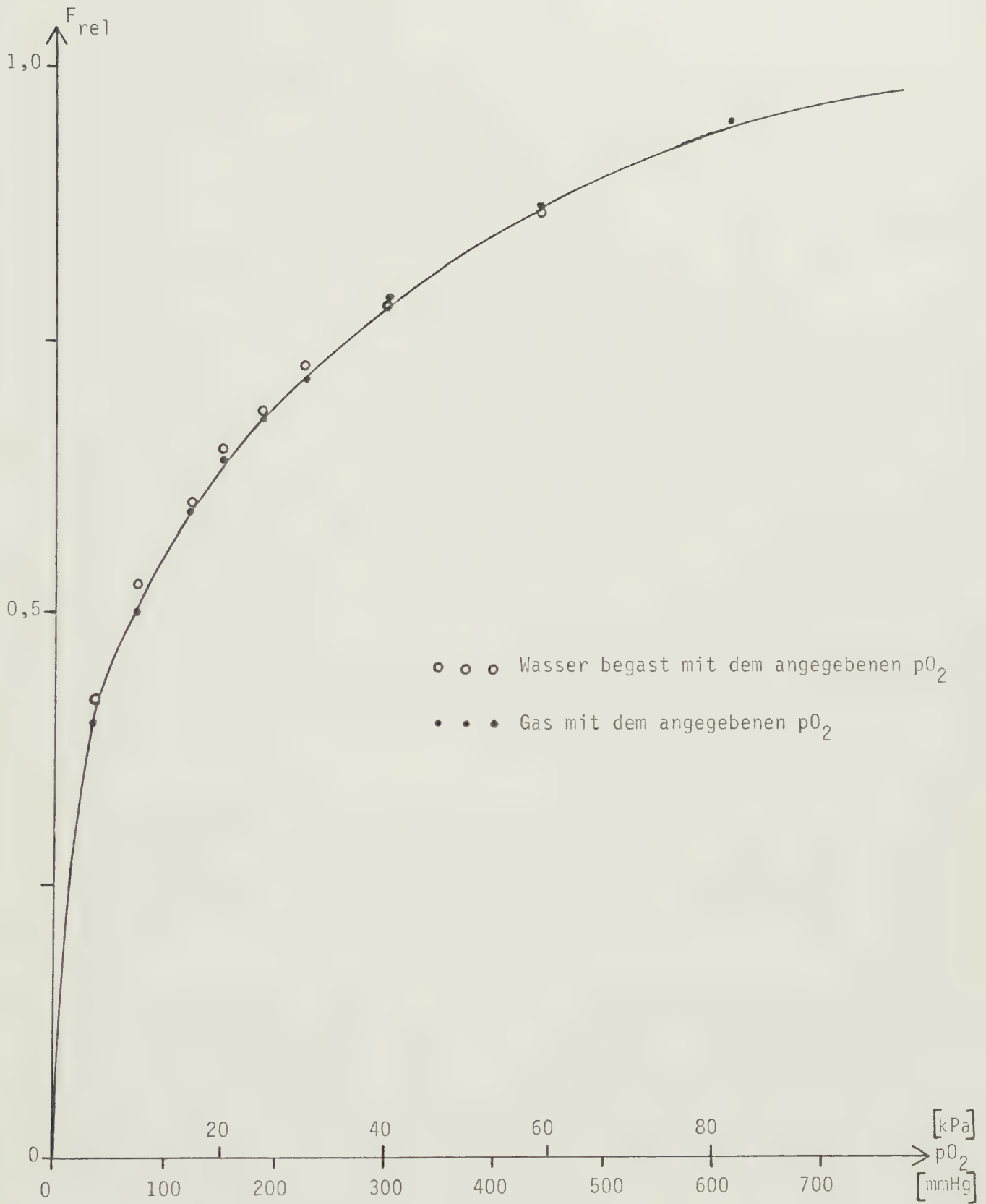


Abbildung 4.3.3 Eichkurve einer Schicht mit Pyren auf Porapak Q aufgezogen

Dies steht in eindeutigen Widerspruch zu den in Abschnitt 2 diskutierten Vorstellungen. Nimmt man an, daß das Farbstoff-Molekül wie das Molekül B in Abbildung (2.2.3) vorliegt, so sollte K_q und damit auch die Eichkurve deutlich von der Viskosität des Mediums vor der Schicht abhängen. Wie Tabelle (2.2.1) zeigt, sollte sich dann sowohl p_{50} als auch p'_{50} beim Übergang von der flüssigen zur gasförmigen Phase erheblich ändern. Dies wurde jedoch experimentell nicht beobachtet. Eine Interpretation dieses Resultats ist, daß die Farbstoffmoleküle nicht auf der Oberfläche angeordnet sind, sondern sich in einer Tasche befinden, was dem Fall C von Abbildung (2.2.3) entspricht. Für das Fluoreszenzverhalten wäre dann die Viskosität des Mediums in der Tasche entscheidend. In diesem Zusammenhang ist interessant, daß Bauer et. al. {60} nachgewiesen haben, daß an Silica-Gel adsorbiertes Pyren sehr beweglich ist. Im übrigen zeigen die O_2 -sensitiven TPP-Schichten diesen Effekt nicht. Beim Übergang von der Gasphase zur flüssigen Phase verschwindet die Fluoreszenz vollständig. Gemäß Gleichung (2.2.21) sollte dagegen beim Übergang zur flüssigen Phase sich das Fluoreszenzsignal eher verstärken. Es sind noch weitere Experimente erforderlich, um den Zustand des Farbstoffes auf der Porapak-Schicht genauer zu charakterisieren. Alle Befunde sprechen jedoch dafür, daß es sich hier um einen sehr speziellen Zustand handelt.

Die bei Pyren beobachtete Unabhängigkeit der Eichkurve vom Milieu vor der Schicht ist für die Anwendung sehr interessant. Es läßt sich nämlich dann die Eichkurve mit Hilfe von Gasgemischen bestimmen und dann diese Eichkurve direkt für die Messung in flüssiger Phase übertragen.

In einem weiteren Experiment wurde die Frage untersucht, ob die O_2 -sensitiven Schichten reproduzierbar herzustellen sind. Hierzu wurden 280 mg Pyren in 50 ml Benzol gelöst. Dann wurden in 1 ml dieser Lsg. 0,22 g Porapak Q suspendiert und in der üblichen Weise O_2 -sensitive Schichten hergestellt. In Tabelle (4.3.1) sind nun die an vier O_2 -sensitiven Schichten erhaltenen F_{rel} angegeben. Die Reproduzierbarkeit ist zufriedenstellend, der Mittelwert des Variationskoeffizienten der einzelnen Meßwerte beträgt 0,7%.

Als weiterer hydrophober Farbstoff wurde 1-Dimethylamino-2,6-dizyano-

Tabelle 4.3.1 Prüfung der Reproduzierbarkeit der O₂-sensitiven Schichten

pO ₂ [mmHg]	F _{rel}	F _{rel}	F _{rel}	F _{rel}	F̄ _{rel}
	1.Schicht	2.Schicht	3.Schicht	4.Schicht	
38,8	0,414	0,403	0,404	0,410	0,407 ± 0,005 (1,2%)
74,5	0,511	0,496	0,504	0,508	0,505 ± 0,007 (1,3%)
119,0	0,590	0,575	0,583	0,586	0,583 ± 0,006 (1,1%)
150,4	0,627	0,621	0,622	0,626	0,624 ± 0,003 (0,5%)
182,9	0,671	0,660	0,664	0,668	0,665 ± 0,005 (0,7%)
224,0	0,712	0,704	0,706	0,709	0,708 ± 0,004 (0,5%)
297,5	0,767	0,768	0,768	0,770	0,768 ± 0,002 (0,2%)
441,0	0,865	0,859	0,860	0,862	0,862 ± 0,003 (0,3%)
606,9	0,944	0,943	0,940	0,943	0,943 ± 0,002 (0,2%)

Es wurden vier unterschiedliche Schichten präpariert und die Eichkurve dieser Schichten gemessen.

Mittelwert des Variationskoeffizienten: 0,7%

4-methybenzol (DDMB) eingesetzt. DDMB ist von Burkhard {61} synthetisiert worden. Das Absorptions- und Fluoreszenzspektrum (einer O_2 -sensitiven Schicht) der Substanz sind in Abbildung (4.3.4) angegeben. Vorläufige Untersuchungen belegen, daß auch DDMB gut für den Einsatz in O_2 -sensitiven Schichten geeignet ist.

Neben DDMB wurden auch erste Experimente mit Coronen unternommen. Die vorläufigen, qualitativen Untersuchungen zeigen, daß auch Pyren sich als Fluoreszenzfarbstoff für O_2 -sensitive Schichten eignet. Da, wie bereits erläutert, die physikalischen Parameter, die das Fluoreszenzverhalten eines Farbstoffes beschreiben, eine wesentliche Rolle spielen, ist zu erwarten, daß sich noch eine Reihe anderer Fluoreszenzfarbstoffe in diesem Bereich einsetzen lassen.

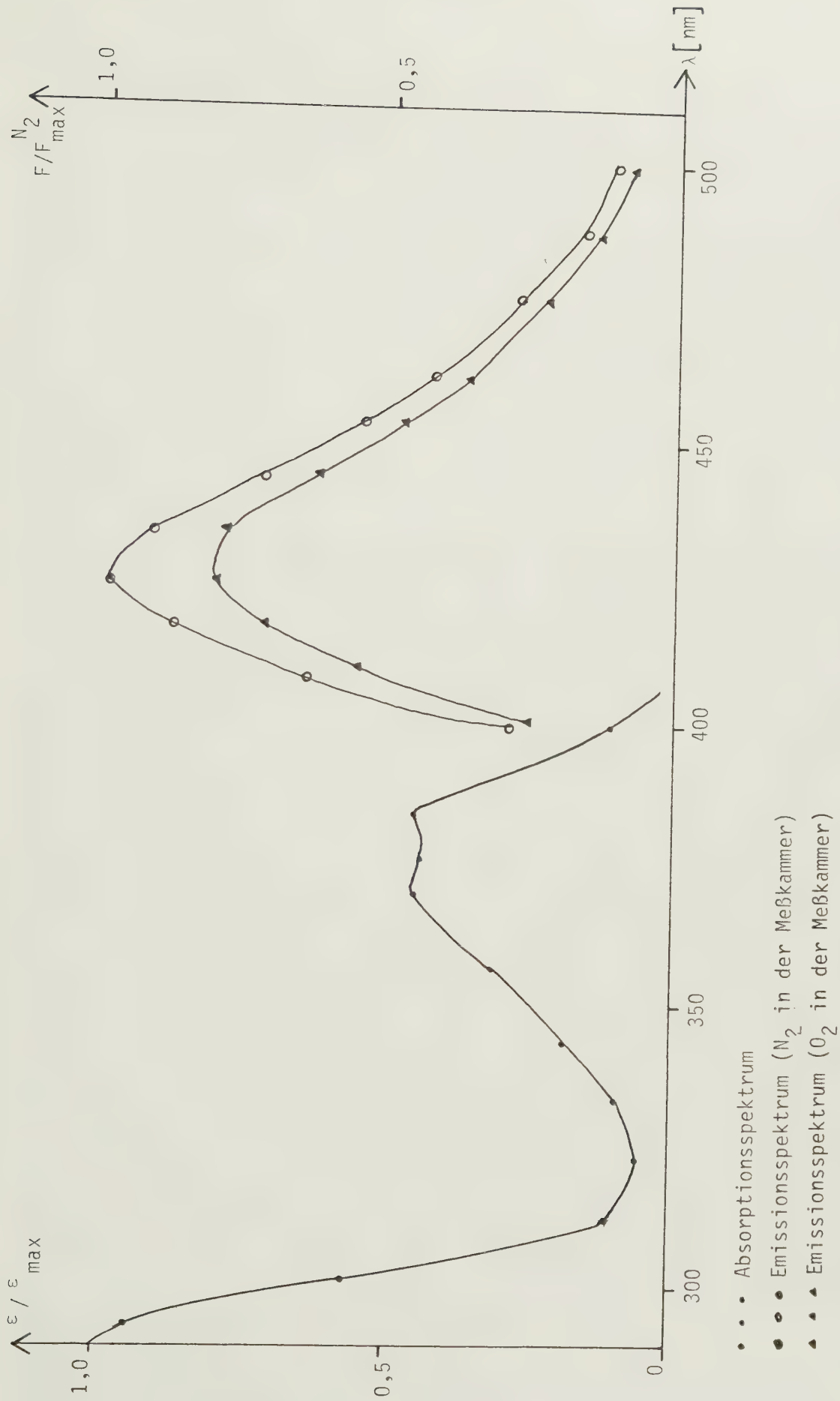


Abbildung 4.3.4 Absorptionsspektrum und Emissionsspektrum von DDMB; Absorptionsspektrum in Äthanol;
Emissionsspektrum einer O_2 -sensitiven Schicht mit DDMB auf Porapak® Q aufgezogen

5. Zusammenfassende Beurteilung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmalig ein funktionstüchtiger O_2 -Detektor für Atemgase mit einer kurzen 90%-Einstellzeit vorgestellt. Im Gegensatz zu bereits vorhandenen Anordnungen konnte in der vorliegenden Arbeit durch den Einsatz hydrophober Fluoreszenzfarbstoffe und hydrophober Trägermaterialien die Querempfindlichkeit zu Wasser vollständig eliminiert werden. Dies ermöglicht eine breite Verwendung des Detektors in der Atmungsphysiologie. Von Vorteil ist weiterhin, daß durch die spezielle Konstruktion der O_2 -empfindlichen Schicht schnelle Einstellzeiten von weniger als 5 ms erstmalig erreicht werden. Folglich lassen sich O_2 -Profile während der Atmung verzerrungsfrei messen und z.B. der anatomische Totraum nach der von Barnikol und Diether angegebenen Methode [1] einfach bestimmen.

Weiterhin wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit mehrere Fluoreszenzfarbstoffe auf ihre Eignung für den Einsatz in einem O_2 -Detektor untersucht. So ließ sich zum Beispiel nachweisen, daß Fluoreszenzgelb ("Fluorescent Yellow[®]") nur unter gewissen Bedingungen eine Unabhängigkeit des Fluoreszenzsignals vom Feuchtigkeitsgehalt der Probe aufweist. Offensichtlich heben sich unter bestimmten äußeren Bedingungen gegensätzliche Effekte auf die Fluoreszenzintensität des Fluoreszenzgelb weitgehend auf. Für zuverlässige Messungen ist diese Situation jedoch sehr ungünstig. Fluoreszenzgelb ist daher nicht als sauerstoffempfindlicher Farbstoff geeignet. Pyren, das von vielen Arbeitsgruppen, die auf diesem Gebiet arbeiten, eingesetzt wird, zeichnet sich dagegen besonders durch seine photochemische Stabilität aus. Dieser Farbstoff hat jedoch den Nachteil, daß man relativ kurzzeitig anregen muß, was zu größeren technischen Problemen führt. So muß zum Beispiel bei der Sondenausführung der Lichtleiter für das Anregungslicht aus Quarzfasern bestehen. Da Quarzfasern sehr spröde sind, wird aus mechanischen Gründen die Anwendung der Sondenausführung deutlich eingeschränkt. Als weiterer Nachteil erweist sich, daß Pyrenderivate karzinogen sind. Hierdurch verbietet sich die Anwendung dieser Farbstoffe für medizinische Fragestellungen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte weiterhin nachgewiesen werden, daß Tetraphenylporphyrin und dessen Derivate einen interessanten Anwendungsbereich besitzen. Tetraphenylporphyrin absorbiert nämlich im sichtbaren Bereich. Das Anregungslicht kann deshalb über übliche Lichtleiter geführt werden, was bezüglich der mechanischen Eigenschaften der Sondenausführung äußerst günstig ist. Weiterhin ist Tetraphenylporphyrin, soweit bekannt, unschädlich für den menschlichen Organismus. Allerdings wird Tetraphenylporphyrin, vermutlich durch eine

Reaktion mit Singlett-Sauerstoff, bei der Bestrahlung langsam photochemisch zersetzt. Es resultiert eine kontinuierliche Abnahme der Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit von der Meßdauer. Dieser Effekt läßt sich jedoch durch möglichst niedrige Anregungsintensitäten in tolerablen Grenzen halten. Andererseits zeigen erste Untersuchungen, daß gewisse Derivate von Tetraphenylporphyrin eine größere photochemische Stabilität aufweisen. In diesem Zusammenhang wurde eine neue chemische Methode zur Darstellung von Silizium-Derivaten des Tetraphenylporphyrins ausgearbeitet. Insgesamt dürfte ein photochemisch inertes Porphyrinderivat in vieler Hinsicht ein idealer Fluoreszenzfarbstoff für den angegebenen O_2 -Detektor sein.

Bei der Herstellung der O_2 -sensitiven Schichten zeigte es sich, daß die Porapak[®]-Körnchen in der Regel nicht homogen mit Farbstoff beladen werden. Es stellte sich deshalb die Frage, ob es unterschiedliche Bereiche der O_2 -empfindlichen Schicht mit unterschiedlichen Fluoreszenzabklingzeiten gibt. Falls dies zutrifft, sollte für die Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität vom pO_2 kein einfaches Verhalten gemäß der Stern-Vollmer-Gleichung (2.2.23) erwartet werden. Die experimentelle Prüfung der Gültigkeit der Stern-Vollmer-Gleichung war deshalb ein wichtiges Problem. Durch eine geeignete Linearisierung und spezielle Auftragung der Daten konnte schließlich belegt werden, daß das Fluoreszenzverhalten der O_2 -sensitiven Schicht der Stern-Vollmer-Gleichung gehorcht.

Für die Anwendung ist die Sondenausführung besonders interessant, da man dann die O_2 -empfindliche Schicht an jeden beliebigen Ort bringen kann. Erste Erfahrungen liegen bereits mit der transkutanen pO_2 -Messung vor. Da die kommerziell erhältlichen Geräte nach dem polarographischen Verfahren arbeiten, welches einen Sauerstoff-Verbrauch hat, könnte, insbesondere bei Patienten im Schock, der Meßwert artifiziell verändert sein (vgl. auch [18]). Man kann sich nämlich im Extremfall Situationen vorstellen, in welchen der Antransport von Sauerstoff limitierend und somit selbst zur Meßgröße wird. Nachteilig ist weiterhin, daß die polarographischen Sonden aufgeheizt werden müssen, so daß, wenn man die Elektroden nicht nach etwa zwei Stunden versetzt, Verbrennungen ersten Grades auftreten können. Da die Sondenausführung des Sauerstoff-Fluoreszenz-Detektors keinen Sauerstoff verbraucht und deshalb möglicherweise mit einer geringeren Heizleistung auskommt, wäre hier eine wesentliche Verbesserung zu erwarten. In jedem Fall werden vergleichende Messungen möglich.

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit ist die Messung des Sauerstoff-Verbrauchs der Tumorzellen. Bei der Verwendung eines polarographischen Detektors konkurriert der Sauerstoff-Verbrauch des Meßsystems mit demjenigen der Zellen.

Auch hier ist die Tatsache, daß der Fluoreszenz-Detektor keinen Eigenverbrauch hat, sehr vorteilhaft. Besonders interessant ist hierbei auch die Messung des Einflusses der Zytostatika auf den Sauerstoff-Verbrauch der Tumorzellen. Es ist die Frage zu klären, ob die Änderung des Sauerstoff-Verbrauchs gegebenenfalls mit der Zytostatika-Empfindlichkeit korreliert. Zur Zeit wird häufig der Thymidin-Einbau-Index in Abhängigkeit vom zugesetzten Zytostatikum gemessen {62}. Die Langzeittests beruhen dagegen auf der Anzüchtung von Tumoren auf der thymusaplastischen Nacktmaus oder dem Wachstum der Tumorzellen in bestimmten Kulturen (z.B. Stammzell-Test). Die Langzeitverfahren haben den Nachteil, daß es häufig mehr als 1 Monat dauert, bis ein Ergebnis vorliegt, und daß nicht alle Tumoren auf der Nacktmaus oder in Zellkulturen angehen. Deshalb sind Kurzzeituntersuchungen für die Prüfung der Zytostatikasensibilität oder -resistenz sehr wertvoll. Während nun mit dem Thymidin-Einbauindex im wesentlichen die DNA-Synthese erfaßt wird, spiegeln sich im Sauerstoff-Verbrauch allgemeine Zelleistungen wieder. Ein Vergleich beider Methoden ist daher sicher interessant. In ersten Experimenten ist es bereits gelungen nachzuweisen, daß die Messung des Sauerstoffverbrauchs von Leukozyten mittels Fluoreszenzlöschung möglich ist {63}.

Neben dem Sauerstoff-Verbrauch der eukaryonten Zellen sollte auch die Atmung prokaryonten Zellen meßbar sein. Im Rahmen weiterer Untersuchungen ist dann zu klären, ob sich die Bestimmung des Sauerstoff-Verbrauchs der Bakterien zur Testung der Sensibilität auf Antibiotika eignet.

Wie bereits eingangs erwähnt, hat die Messung des Sauerstoff-Verbrauchs an Intensivpatienten für deren Überwachung einen wichtigen Stellenwert. Der hier vorgestellte Detektor für Atemgase bietet die Möglichkeit, den Sauerstoffverbrauch der Patienten technisch einfach zu erfassen. Zusammen mit einem kommerziell erhältlichen Kohlendioxid-Detektor sollte es möglich sein, Atemzug für Atemzug den Sauerstoff-Verbrauch, die Kohlendioxid-Produktion und schließlich den Respiratorischen Quotienten zu bestimmen. Die kontinuierliche Messung des Respiratorischen Quotienten ermöglicht die parenterale Ernährung des Patienten bedarfsgerecht anzupassen. Erste Untersuchungen haben weiterhin ergeben, daß sich auch der Totraum nach der von Barnikol und Diether angegebenen Methode {1} gut mit dem angegebenen Sauerstoff-Detektor bestimmen läßt. Hier ist aufgrund vorläufiger Ergebnisse zu erwarten, daß diese Methode besonders die frühzeitige Erkennung obstruktiver Atemwegserkrankungen ermöglicht. Bei einigen Patienten mit normaler Lungenfunktion und klinischen Zeichen einer Atemwegsobstruktion ergab die Messung der bronchialen Dehnbarkeit (vgl. {1}) eindeutig pathologische Werte.

Eine weitere Anwendung ist die Messung des O_2 -Partialdruckes im Boden und in Gewässern. Diese Größe spielt bei Verwitterungsvorgängen eine wesentliche Rolle und ist deshalb in der Umweltschutzforschung von großer Bedeutung. Zur Zeit werden in dem zu untersuchenden Boden Bohrlöcher angelegt und Gasproben abgesaugt. Durch das Absaugen wird das Gas-Milieu erheblich gestört, so daß dieses Meßverfahren mit systematischen Fehlern behaftet ist. Es wäre nun durchaus vorstellbar, daß man die Sonde direkt in das Bohrloch einführt und dort den jeweiligen pO_2 -Wert mißt. Der Vorteil eines solchen Verfahrens ist evident.

Auch die Messung des Sauerstoffverbrauches von Kleintieren ist für viele biologische Fragestellungen sehr wichtig. Hierzu ist es notwendig einzelne Tiere zu messen, da sich mehrere Tiere in der Meßkammer meist gegenseitig stören und so der Sauerstoffverbrauch artifiziell gesteigert wird. In ersten Experimenten (unveröffentlicht) konnte mit einer etwa 4 mg schweren Zuckmückenlarve (*Chironomus plumosus*) ein deutlicher zeitlicher Abfall des Fluoreszenzsignals beobachtet werden. Die Messung des Sauerstoffverbrauches von Kleintieren ist somit sicher möglich.

Zusammenfassung:

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß es möglich ist, mittels Fluoreszenzlöschung die Sauerstoffkonzentration in Atemgasen zu messen. Als wesentlicher technischer Fortschritt erwies sich die Verwendung hydrophobem Trägermaterials zu der Herstellung sauerstoff-empfindlicher Fluoreszenzschichten. Der angegebene Sauerstoff-Detektor für Atemgase besitzt eine mindestens zehnfach schnellere Einstellzeit als die derzeit kommerziell erhältlichen Meßgeräte. Von Vorteil ist weiterhin, daß das Meßsystem keinen Sauerstoff verbraucht. Sowohl die kurze Einstellzeit, als auch der fehlende Sauerstoffverbrauch ermöglichen eine breite Anwendung dieses Detektors für unterschiedliche Fragestellungen aus der Medizin, Biologie und Umweltforschung.

Literatur

- 1 W.K.R.Barnikol, K.Diether
Respiration 38 (1979) 27-35
- 2 H.Neuhof, D.Hey, E.Glaser, H.Wolf, H.G.Lasch
Dtsch. med. Wschr. 98 (1973) 1227-1234
- 3 H.Neuhof
Anästhesiol. Intensivmed. 125 (1980) 624-629
- 4 H.Neuhof
Therapiewoche 32 (1982) 4659-4668
- 5 L.C.Clark
Transact. Amer. Soc. art. int. Organs 2 (1956) 41-48
- 6 G.E.Ewing, A.Maschka
Physikalische Analysen und Untersuchungsmethoden
Rudolf Bohmann Industrie- und Fachverlag, Wien (1964)
- 6a M.Lungu
BPT-Bericht der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung
1 (1979) 21-25
- 7 W.Döhring, K.Diefenthäler, W.K.R.Barnikol
in: M.Kessler (ed.) Oxygen supply, Urban & Schwarzenberg,
München 1973
- 8 Portable Oxygenanalyser instruktion book
Taylor Servomex Ltd., Sussex 1973
- 9 200 MGA Instruction Manual Centronic, Croydon CR9 0BG, England
- 10 D.W.Lübbers, N.Opitz, P.P.Speiser, H.J.Bisson
Z.Naturforsch. 32c (1977) 133-134
- 11 D.W.Lübbers, N.Opitz
in: J.Grote, D.Renau, G.Thews: Oxygen transport to tissue - II
(1976) 65-68, New York, Plen. Publ. Co.
- 12 D.W.Lübbers, N.Opitz
GP 2508637 (1975)
- 13 R.Berthold
GP 2346792 (1973)
- 14 J.Marcoll, M.Schmidt
GP 2823318 (1978)

- 15 C.C.Stanley, J.L.Kropp
GP 2117290 (1971)
- 16 M.Schmidt
BPT-Bericht der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung
2 (1980) 33-36
- 17 J.I.Peterson, R.V.Fitzgerald
Rev. Sci. Instr. 51 (1980) 670-671
- 18 P.D.Goldenheim, H.Kazemi
New Engl. J. Med. 311 (1984) 717-720
- 19 N.K.Burki, R.K.Albert
Chest 83 (1983) 66-670
- 20 W.C.Shoemaker, D.Vidgasagar
Crit. Care Med. 9 (1981) 689-690
- 21 T.Masuda, T.Higashimura
Accts. Chem. Res. 17 (1984) 51-56
- 22 M. v. Smoluchowski
Physik. Zeitschr. 27 (1916) 585
- 23 M. v. Smoluchowski
Physik. Zeitschr. 27 (1916) 557
- 24 A.Gierer, K.Wirtz
Z.Naturforsch. 8a (1953) 532
- 25 H.Margenau, G.M.Murphy
Die Mathematik für Physik und Chemie
Verl. Harri Deutch 1965
- 26 D.F.Calef, J.M.Deutch
Ann. Rev. Phys. Chem. 34 (1983) 493
- 27 O.Burkhard, W.K.R.Barnikol
Z.Naturforsch. 406 (1985) 1719
- 28 J.Franck, P.Pringsheim
J. Chem. Phys. 11 (1943) 21
- 29 H.Kautsky
Chem. Ber. 64 (1931) 2053
- 30 H.Kautsky, G.O.Müller
Z. Naturforsch. 2a (1947) 167

- 31 J.Marcoll, M.Schmidt
GP 2823318
- 32 Katalog der Fa. Schott/Mainz
- 33 D.P.F.Möller
Biomed. Technik 27 (1982) 147
- 34 Prospekt der Fa. Princeton Applied Research
Deutsche Niederlassung: EG & G Instruments GmbH
Hohenlindenerstr. 12, 8000 München 80
- 35 Y.Talmi
Anal. Chemistry 47 (1975) 697
- 36 Prospekt der Fa. EG & G, Brookdeal
Deutsche Niederlassung EG & G Instruments GmbH
Hohenlindenerstr. 12, 8000 München 80
- 37 O.Burkhard, W.K.R.Barnikol
Prax. Klin. Pneumol. 37 (1983) 805
- 38 W.K.R.Barnikol, O.Burkhard, Th.Gärtner
20.Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Biomedizinische
Technik, Karlsruhe, 1986
- 39 O.Burkhard, W.K.R.Barnikol, D.Möller
World Congress on med. Physics and biomed. Engineering
Hamburg, 1982
- 40 T.Förster
Fluoreszenz organischer Verbindungen
Vandenhack & Ruprecht, 1982
- 41 K.T.V.Crattan, A.W.Palmer
Rev. Sci. Instr. 56 (1985) 1784
- 42 A.F.Cheng
Prospekt der Fa. Luxtron Corp., Mountain View, California, U.S.A.
- 43 P.Sayer, M.Goutermann, C.R.Connell
Accts. Chem. Res. 15 (1982) 73
- 44 A.Trübs
Liebigs Ann. Chem. 728 (1969) 115
- 45 M.K.Lowery, A.J.Starshak, J.N.Esposito, P.C.Krueger, M.E.Kenney
Inorg. Chem. 4 (1965) 128

- 46 J.N.Esposito, J.E.Lloyd, M.E.Kenney
Inorg. Chem. 5 (1966) 1979
- 47 P.C.Krueger, M.E.Kenney
J. Org. Chem. 28 (1963) 3379
- 48 B.L.Wheeler, G.Nagasubramanian, A.J.Bard, L.A.Schechtmann,
D.R.Dininny, M.E.Kenney
J. Am. Chem. Soc. 106 (1984) 7404
- 49 M.Goutermann, P.Sayer, E.Shankland, J.P.Smith
Inorg. Chem. 20 (1981) 87
- 50 A.Finch, P.J.Gardner, K.K.Sen Gupta
J. Chem. Soc. (B) (1966) 1162
- 51 E.I.Kovshev, V.A.Puchnova, E.A.Lukyanets
Zh. Org. Kim. 7 (1971) 369
- 52 D.B.Baylan, M.J.Calvin
J. Am. Chem. Soc. 89 (1967) 5472
- 53 L.J.Bellamy
Ultrarotspektrum und chemische Konstitution, Dietrich Steinkopff
Verlag, Darmstadt, 1966
- 54 J.I.Peterson, R.V.Fitzgerald
USP 4 476 870; 1984
- 55 J.I.Peterson, R.V.Fitzgerald, D.K.Buchhold
Anal. Chem. 56 (1984) 62
- 56 Th.Förster, K.Kasper
Z. Phys. Chem. 1 (1954) 274
- 57 Th.Förster, K.Kasper
Z. Elektrochem. 59 (1955) 976
- 58 J.B.Birks, L.G.Christophorou
Spectrochim. Acta 19 (1963) 401
- 59 O.Burkhard, W.K.R.Barnikol
Z. Naturforsch. 40b (1985) 1719
- 60 R.K.Bauer, R.Borenstein, P.de Mago, K.Okada, M.Rafalska,
W.R.Ware, K.C.Wu
J. Am. Chem. Soc. 104 (1982) 4635

- 61 O.Burkhard
Dissertation, Mainz 1976
- 62 W.Jonat, M.Kaufmann, F.Kubli, H.Maas
Prätherapeutische Tumortestung
W.Zuckschwerdt-Verlag, München 1985'
- 63 W.K.R.Barnikol, O.Burkhard, N.Weiler
Pflügers Archiv 408 (1987), R 90

Lebenslauf

Name: Oswald Burkhard
Geburtsdatum: 31.5.1950
Geburtsort: Esselborn/Rheinhessen
Eltern: Heinrich Burkhard, Landwirt, und Ehefrau
Katharina geb. Schweitzer
Familie: Ehefrau Ursula geb. Ostermeyer
verheiratet seit dem 30.8.1974
Tochter Susanne, geboren am 8.10.1980
Tochter Katrin, geboren am 23.9.1984

Ausbildung

Volksschule: 1956-1960 in Esselborn
höhere Schule: 1960-1968 Staatliches Neusprachliches und
Naturwissenschaftliches Gymnasium, Alzey
Studium: Ab 30.9.1968 Studium der Chemie an der
Johannes Gutenberg Universität in Mainz
16.3.1971 Diplom-Vorprüfung in Chemie
28.3.1973 Diplom-Hauptprüfung in Chemie
Diplomarbeit am Institut für physikalische
Chemie unter der Anleitung von Prof.Dr.W.Liptay
ab 18.9.1973 Studium der Physik an der
Johannes Gutenberg Universität in Mainz
ab 19.3.1976 Studium der Medizin an der
Johannes Gutenberg Universität in Mainz
22.3.1978 Ärztliche Vorprüfung
22.3.1979 erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
7.4.1981 zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
21.4.1981-26.4.1982 Praktisches Jahr am Städtischen
Krankenhaus Kaiserslautern
26.4.1982 Approbation als Arzt

26.1.1983 ECFMG-Examen

5.10.1984 FMGEMS-Examen

7.6.1986 Abschluß des Elektronik-Lehrganges I

Sprachen: Englisch, Französisch, Russisch, Portugiesisch

Beruf:

1.10.1973 bis 30.9.1976 wissenschaftlicher

Mitarbeiter am Institut für Physikalische Chemie

2.11.1976 Promotion in physikalischer Chemie

1.10.1976-30.9.1979 wissenschaftlicher Mitarbeiter

am Physiologischen Institut der Universität Mainz

ab 1.5.1982 als wissenschaftlicher Mitarbeiter

an der Abteilung für Hämatologie der I. Medizinischen

Klinik der Universität Mainz tätig:

5/82 - 5/83 onkologische Station

5/83 - 3/84 hämatologische Station

3/84 - 4/85 hämatologische Ambulanz

4/85 - 9/85 Intensivstation der I. Medizinischen Klinik

10/85 - 9/86 Abteilung für Endokrinologie

10/86 - 9/87 Abteilung für Pneumologie

ab 10/87 onkologische Station

zur Zeit wird die medizinische Promotion und die

Weiterbildung zum Arzt für Innere Medizin angestrebt.

